

**STUDI AKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (*L. PLANTARUM*
DAN *L. FERMENTUM*) TERHADAP KADAR PROTEIN
MELALUI PENAMBAHAN TEPUNG KEDELAI
PADA BUBUR INSTAN TERFERMENTASI**

SKRIPSI KIMIA

**Diajukan kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta untuk Memenuhi Sebagian
Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Kimia**



**Oleh :
Muh Ade Trinanda
NIM : 08307144022**

**PROGRAM STUDI KIMIA
JURUSAN PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2015**

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi yang berjudul “Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*L. plantarum* dan *L. fermentum*) terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai pada Bubur Instan Terfermentasi” yang disusun oleh Muh Ade Trinanda, NIM 08307144022 ini telah disetujui pembimbing untuk diujikan.

Disetujui pada tanggal

15 Juni 2015

Mengetahui,
Koordinator Tugas Akhir Skripsi

Menyetujui,
Pembimbing Utama,

Prof. Dr. Endang Widjajanti LFX
NIP 19621203 198601 2 001

Dr. rer. nat. Senam
NIP 19670306 199203 1 011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*L. plantarum* dan *L. fermentum*) terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai pada Bubur Instan Terfermentasi” yang disusun oleh Muh Ade Trinanda, NIM 08307144022 ini telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 24 Juni 2015 dan dinyatakan lulus.

DEWAN PENGUJI

Nama	Jabatan	Tanda tangan	Tanggal
Dr. rer. nat. Senam NIP 19670306 199203 1 011	Ketua Penguji		30.06.2015
Annisa Fillaeli, M.Si NIP 19790522 200812 2 003	Sekretaris Penguji		30/6-2015
Dr. Das Salirawati, M.Si NIP 19651016 199203 2 001	Penguji Utama		30/6-2015
C. Budimarwanti, M.Si NIP 19660330 199002 2 001	Penguji Pendamping		30/6-2015

Yogyakarta, Juni 2015

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Yogyakarta

Dekan,



Dr. Hartono

NIP. 19620329 198702 1 002

HALAMAN PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Muh Ade Trinanda
Nomor Mahasiswa : 08307144022
Program Studi : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Penelitian : Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*L. plantarum* dan *L. fermentum*) terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai pada Bubur Instan Terfermentasi

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang telah lazim. Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya.

Tanda tangan dosen penguji yang tertera dalam halaman pengesahan adalah asli. Jika tidak asli, saya siap menerima sanksi ditunda yudisium pada periode berikutnya.

MOTTO

La Tahzan..., janganlah kamu bersedih, sesungguhnya Allah selalu bersama kita.
(QS. At-Taubah: 40)

Berdoalah kamu kepada Ku, niscaya akan Kuperkenankan bagimu. (QS. Al-Mu'minun: 60)

Bukankah kami telah melapangkan untukmu dadamu. Dan kami telah menghilangkan darimu beban. Yang memberatkan punggungmu. Dan kami tinggikan bagimu sebutan (nama)mu. Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya kepada Rabb-mu lah hendaknya kamu berharap. (QS. Al-Insyirah: 1-8)

“Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua”. (Aristoteles)

“Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah”. (Thomas Alva Edison)

Wisuda setelah 14 semester adalah kesuksesan yang tertunda

Kalau hari ini kita jadi penonton bersabarlah menjadi pemain esok hari

Allah tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupannya.
(QS. Al-Baqarah: 286)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan berucap syukur kepada Allah SWT, kupersembahkan skripsi ini untuk:

1. Ibu dan Bapakku tersayang yang tidak pernah berhenti berdoa dan memberi semangat.
2. Mas dan Mbakku yang selalu memberi semangat.

Ucapan terima kasih untuk:

1. Keluarga besarku terima kasih atas segala dukungan dan doanya.
2. Teman-temanku Kimia NR'08 dan adik-adik tingkat.
3. Teman-teman yang tidak dapat disebutkan semuanya yang mendukung dalam mengerjakan skripsi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia yang selalu diberikan kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*L. plantarum* dan *L. fermentum*) terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai pada Bubur Instan Terfermentasi”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains. Sholawat dan salam penulis ucapkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan suri teladan kepada kita.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, terutama kepada:

1. Bapak Dr. Hartono, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
2. Bapak Dr. Hari Sutrisno selaku Ketua Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
3. Ibu Dr. Eli Rohaeti, selaku Sekretaris Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
4. Ibu Prof. Dr. Endang Widjajanti LFX., selaku Koordinator Tugas Akhir Skripsi Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
5. Bapak Dr. rer. nat. Senam, selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Ibu Dr. Das Salirawati, M.Si, selaku penguji utama yang telah berkenan memberikan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Ibu C. Budimarwanti, M.Si, selaku penguji pendamping utama yang telah berkenan memberikan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
8. Ibu Annisa Fillaeli, M.Si, selaku sekretaris penguji yang telah berkenan memberikan masukan dalam penyusunan skripsi ini.

9. Seluruh staf di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
10. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata dengan jujur penulis mengakui bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi lebih sempurnanya skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis pada khususnya, dan pembaca pada umumnya, dan semoga penulis skripsi ini mendapat ridho dari Allah SWT. Aamiin.

Yogyakarta, Juni 2015

Muh Ade Trinanda

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Identifikasi Masalah.....	3
C. Pembatasan Masalah.....	3
D. Perumusan Masalah.....	4
E. Tujuan Penelitian.....	5
F. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Deskripsi Teori.....	6
B. Penelitian yang Relevan.....	29
C. Kerangka Berpikir.....	30
D. Hipotesis Penelitian.....	31
BAB III METODE PENELITIAN.....	32
A. Subjek Penelitian dan Objek Penelitian.....	32
B. Variabel Penelitian.....	32
C. Alat dan Bahan Penelitian.....	33

	D. Tempat Penelitian.....	33
	E. Prosedur Penelitian.....	33
	F. Teknik Analisis Data.....	41
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	42
	A. Hasi Penelitian.....	42
	B. Pembahasan.....	48
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
	A. Kesimpulan.....	62
	B. Saran.....	63
	DAFTAR PUSTAKA.....	64
	LAMPIRAN.....	68

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Kandungan Gizi dalam Bonggol Pisang per 100 g.....	8
Tabel 2	Komposisi Zat Gizi Kedelai Tiap 100 g.....	10
Tabel 3	Komposisi Zat Gizi Tepung Kedelai.....	12
Tabel 4	Hasil Perhitungan Pertumbuhan Bakteri <i>L. plantarum</i> dan <i>L. fermentum</i>	45
Tabel 5	Penentuan Panjang Gelombang.....	45
Tabel 6	Penentuan Waktu Kestabilan.....	46
Tabel 7	Absorbansi Larutan Standar.....	47
Tabel 8	Kadar Protein Bubur Instan Terfermentasi pada Berbagai Variasi Lama Fermentasi.....	49
Tabel 9	Kenaikan Kadar Protein Antar Lama Fermentasi.....	58
Tabel 10	Kadar Protein Bubur Instan Terfermentasi oleh <i>L. plantarum</i>	59
Tabel 11	Kadar Protein Bubur Instan Terfermentasi oleh <i>L. fermentum</i>	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Bonggol Pisang Kepok.....	7
Gambar 2	Kedelai.....	9
Gambar 3	Tepung Kedelai.....	11
Gambar 4	Grafik Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}).....	53
Gambar 5	Grafik Penentuan Waktu Kestabilan.....	53
Gambar 6	Kurva Standar Protein.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pembuatan Tepung Bonggol Pisang.....	68
Lampiran 2	Proses Fermentasi Bubur Instan.....	69
Lampiran 3	Penentuan Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat.....	70
Lampiran 4	Perhitungan Garis Regresi.....	73
Lampiran 5	Perhitungan Kadar Protein Larutan Sampel.....	75
Lampiran 6	Dokumentasi.....	88

**STUDI AKTIVITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (*L. PLANTARUM*
DAN *L. FERMENTUM*) TERHADAP KADAR PROTEIN
MELALUI PENAMBAHAN TEPUNG KEDELAI
PADA BUBUR INSTAN TERFERMENTASI**

Oleh:

Muh Ade Trinanda
NIM. 08307144022

Pembimbing Utama : Dr. rer. nat. Senam

ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* dalam proses fermentasi bubur instan dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi.

Subjek penelitian ini adalah bubur instan yang terbuat dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa tepung kedelai hasil fermentasi oleh bakteri asam laktat. Objek penelitian ini adalah kandungan protein terlarut pada bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa tepung kedelai yang difermentasi oleh bakteri asam laktat. Jenis bakteri asam laktat yang digunakan yaitu *L. plantarum* dan *L. fermentum*. Variasi lama fermentasi yang dilakukan adalah 24, 48, dan 72 jam. Penentuan kadar protein terlarut dengan metode Lowry menggunakan larutan standar kasein dengan terlebih dahulu panjang gelombang maksimum, menentukan waktu kestabilan, dan kurva standar protein. Analisis data dilakukan secara deskriptif kuantitatif.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein menunjukkan pola aktivitas yang berbeda antara hasil fermentasi tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi. Ada perbedaan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi. Perbedaan aktivitas kedua bakteri dipengaruhi oleh pH yang terbentuk ketika fermentasi berlangsung.

Kata Kunci: tepung bonggol pisang, tepung kedelai, lama fermentasi, aktivitas bakteri asam laktat

STUDY OF LACTIC ACID BACTERIA (*L. PLANTARUM* DAN *L. FERMENTUM*) FOR PROTEIN VALUE WITH ADDITION OF SOYBEAN FLOUR ON FERMENTED INSTANT PORRIDGE

By:

Muh Ade Trinanda
NIM.08307144022

Supervisor : Dr. rer. nat. Senam

ABSTRACT

The aims of this research were to know the *L. plantarum* and *L. fermentum* lactic acid bacteria activation based on protein value of fermented instant porridge and to know the difference of *L. plantarum* and *L. fermentum* lactic acid bacteria on instant porridge fermentation process with addition of soybean flour or without addition of soybean flour in various time of fermentation.

This research subject is instant porridge made from banana tuber flour with and without soybean flour fermented by lactic acid bacteria. This research object is the content of soluble protein in the banana tuber flour instant porridge with and without soybean flour fermented by lactic acid bacteria. Type of lactic acid bacteria used is *L. plantarum* and *L. fermentum*. Variations in fermentation time taken is 24, 48, and 72 hours. Determination of dissolved protein content by Lowry method using a standard solution of casein by first determining the maximum wavelength, stability time, and the standard protein curve. Data analysis was done descriptively quantitatively.

Based on the research activity of lactic acid bacteria *L. plantarum* and *L. fermentum* in terms of protein content showed a different pattern of activity among banana tuber flour fermented with and without the addition of soybean flour in a wide variety of fermentation. There are differences in the activity of lactic acid bacteria *L. plantarum* and *L. fermentum* in terms of levels of protein contained in the fermented instant porridge banana tuber flour with and without the addition of soybean flour in a wide variety of fermentation. Differences in the activity of both bacteria is influenced by the pH that is formed when the fermentation takes place.

Keyword: banana tuber flour, soybean flour, long fermentation, the activity of lactic acid bacteria

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Konsumsi pangan per kapita di Indonesia masih terhitung rendah baik secara kuantitatif maupun secara kualitatif. Masalah penyediaan kalori dan protein yang cukup bagi seluruh rakyat Indonesia sangatlah mendesak untuk segera diadakan langkah penanganannya. Salah satu usaha dalam menanggulangi masalah gizi adalah dengan memperkenalkan makanan murah, bergizi, dan dapat diterima oleh masyarakat. Dalam hal inilah makanan diusahakan berasal dari bahan berpati tinggi dan berprotein tinggi. Untuk menambah kebutuhan gizi di Indonesia inilah, terdapat pemikiran untuk memadukan bahan berpati tinggi (bonggol pisang) dan bahan berprotein tinggi (kedelai) untuk dijadikan produk makanan alternatif bernilai gizi tinggi dan terjangkau di kalangan masyarakat luas.

Tanaman pisang merupakan salah satu komoditas unggulan yang dapat ditemui di hampir di sebagian wilayah di Indonesia. Produktivitas pisang mampu memberikan kontribusi antara 40 - 45% terhadap produksi buah nasional maupun keragaman penggunaan, seperti buah konsumsi segar, olahan, bahan baku industri, dan pakan ternak. Besarnya potensi pemanfaatan pisang membuat berbagai pihak mulai memanfaatkannya menjadi salah satu peluang usaha potensial yang memiliki prospek cerah ke depannya. Pisang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat tidak hanya buahnya, melainkan juga bagian dari tanaman pisang seperti bonggol, kulit, dan batang pisang yang saat ini dapat diolah menjadi beragam makanan olahan yang bernilai jual tinggi. Pengolahan bagian tanaman

pisang menjadi tepung diharapkan dapat sebagai substitusi tepung terigu. Tepung bonggol pisang merupakan produk antara yang cukup prospektif dalam pengembangan sumber pangan lokal.

Bonggol pisang merupakan salah satu pilihan yang tepat untuk mengganti beras sebagai bahan makanan pokok. Kandungan bonggol pisang kaya akan karbohidrat dan serat yang tinggi. Sebagian besar masyarakat menganggap bonggol pisang sebagai bagian tanaman pisang yang tidak berguna (limbah). Manfaat bonggol pisang bagi tubuh manusia disamping dapat menyediakan karbohidrat dan serat juga sebagai sumber energi, protein, dan lemak.

Dewasa ini teknologi tepung komposit banyak mendapatkan perhatian, terutama dalam hubungannya dengan usaha penganeekaragaman pangan. Pada tepung komposit aspek nutrisi, fungsional, dan teknis dapat dimanipulasi, sehingga memberikan efek yang saling menunjang. Kadar protein bonggol pisang yang rendah dapat ditingkatkan melalui suplementasi pangan sumber protein nabati dari kedelai. Adapun penggunaan tepung kedelai yang dicampurkan digunakan untuk memperbaiki nilai gizi (komponen non-karbohidrat, seperti lemak dan protein) dari produk yang diperoleh. Formula tepung campuran dari tepung bonggol pisang dan tepung kedelai memiliki kadar protein yang lebih tinggi.

Pada penelitian ini akan dilakukan studi aktivitas bakteri asam laktat terhadap kadar protein melalui penambahan tepung kedelai pada bubur instan terfermentasi. Melalui penelitian ini ingin diketahui bahwa aktivitas bakteri asam laktat membutuhkan protein sebagai nutrisi yang diambil dari tepung kedelai yang

ditambahkan, sehingga proses fermentasi berjalan lebih baik. Dipilihnya bonggol pisang kepok, karena merupakan jenis pisang yang paling banyak dikonsumsi masyarakat, sehingga bonggol pisangnya pun akan lebih mudah didapat. Proses fermentasi terhadap bubur bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai dilakukan sebagai upaya menghambat pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme, diantaranya mikroba patogen sehingga bubur instan yang dihasilkan, diharapkan memiliki umur simpan yang lebih panjang.

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut:

1. Beberapa bagian tanaman pisang belum dimanfaatkan secara maksimal sebagai bahan pangan, seperti jantung pisang, pelepah pisang, dan bonggol pisang.
2. Bonggol pisang saat ini masih dianggap sebagai limbah pertanian dan pemanfaatannya dalam bahan pangan masih sangat terbatas.
3. Penggunaan bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* belum banyak dimanfaatkan di kalangan masyarakat.
4. Kandungan protein pada bahan utama bubur bonggol instan masih relatif rendah.

C. Pembatasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah yang dikemukakan di atas, maka pada penelitian ini dibatasi pada beberapa hal sebagai berikut:

1. Bagian tanaman pisang yang akan dimanfaatkan sebagai bahan pangan dalam penelitian ini adalah bagian bonggol pisang.
2. Bonggol pisang akan dimanfaatkan dalam pengolahan bahan pangan, yaitu berupa tepung bonggol pisang.
3. Penggunaan bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* digunakan dalam pembuatan bubur bonggol instan.
4. Peningkatan kandungan protein pada bahan utama bubur instan bonggol pisang dicampur dengan tepung kedelai dan difermentasi menggunakan bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum*.

D. Perumusan Masalah

Berdasarkan pembatasan masalah dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi?
2. Adakah perbedaan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi?

E. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah, maka tujuan penelitian ini untuk mengetahui:

1. aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi.
2. ada tidaknya perbedaan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi.

F. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat:

1. Bagi mahasiswa, sebagai bahan acuan atau referensi untuk penelitian yang sejenis.
2. Bagi masyarakat, sebagai informasi tentang manfaat bonggol pisang dalam pemenuhan kebutuhan pangan.
3. Bagi lembaga, sebagai penambahan khasanah ilmu pengetahuan khususnya tentang biokimia pangan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

1. Bonggol Pisang

Pisang merupakan tanaman yang banyak dijumpai di daerah Asia Tenggara termasuk Indonesia. Tanaman yang mempunyai nama latin *Musa paradisiaca* merupakan tanaman yang serba guna, mulai dari buah, daun, hingga akar dapat dimanfaatkan. Produksi pisang di Indonesia cukup besar, bahkan Indonesia menjadi salah satu penghasil pisang dengan jumlah yang besar. Daerah penghasil pisang terbesar berada di Pulau Jawa (Suhardi dkk, 2002: 15). Indonesia termasuk salah satu negara penghasil pisang terbesar, karena sekitar 50 persen produksi pisang Asia berasal dari Indonesia.

Tanaman pisang dibudidayakan di daerah tropis karena menyukai iklim panas dan memerlukan sinar matahari penuh. Tanaman ini dapat tumbuh di tanah yang cukup air pada daerah dengan ketinggian sampai 2000 m di atas permukaan air laut. Pisang merupakan tanaman yang berbuah hanya sekali kemudian mati. Tingginya antara 2 - 9 m, berakar serabut dengan batang di bawah tanah (bonggol) yang pendek. Tanaman ini dapat tumbuh pada iklim tropis basah, lembab dan panas (Rismunandar, 1990: 24). Adapun taksonomi tanaman pisang sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>

Kelas : *Monocotyledonae*
Ordo : *Scitaminae*
Famili : *Musaceae*
Sub famili : *Muscoideae*
Genus : *Musa*
Spesies : *Musa paradisiaca typica*

Bonggol pisang merupakan bagian bawah dari batang tanaman pisang yang mengembung seperti ubi dan terletak didalam tanah seperti batang sejati, bonggol pisang termasuk jenis umbi batang dengan kandungan karbohidrat sebesar 66,2% (Anonim, 2013). Berikut ini adalah gambar bonggol pisang kepok.



Gambar 1. Bonggol Pisang Kepok

Menurut Direktorat Gizi Depkes (1981), kandungan karbohidrat yang tinggi pada bonggol pisang menjadikannya dapat dimanfaatkan untuk diambil patinya, pati ini menyerupai tepung sagu dan tepung tapioka. Bonggol pisang memiliki komposisi yang terdiri dari 76% pati dan 20% air. Adapun kandungan gizi bonggol pisang ditunjukkan oleh Tabel 1 (Direktorat Gizi Depkes (1981).

Tabel 1. Kandungan Gizi dalam Bonggol Pisang per 100 gram

No	Kandungan Gizi	Bonggol Basah	Bonggol Kering
1	Kalori (kal)	43	245
2	Protein (g)	0,6	3,4
3	Lemak (g)	0	0
4	Karbohidrat (g)	11,6	66,2
5	Ca (mg)	15	60
6	P (mg)	60	150
7	Fe (mg)	0,5	2
8	Vitamin A (SI)	0	0
9	Vitamin B (mg)	0,01	0,04
10	Vitamin C (mg)	12	4
11	Air (%)	86	20

Berdasarkan komposisi kimia bonggol pisang tersebut, maka bonggol pisang berpotensi untuk dapat dijadikan bahan makanan yang cukup baik, karena bonggol pisang cukup banyak mengandung karbohidrat yaitu sekitar 66,2%. Oleh karena itu bonggol pisang ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan (pengganti beras dan gandum paling sederhana).

2. Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill)

Sumber protein nabati yang memiliki kadar protein tinggi berasal dari komoditi kacang-kacangan. Ada sekian banyak jenis kacang-kacangan, tetapi jenis yang dominan dikonsumsi adalah kedelai (Anonim, 1985). Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) atau *Soja max* (L) mengandung kurang lebih 40% protein, tertinggi di antara jenis kacang-kacangan yang lain.

Bagian utama kacang kedelai adalah kulit sebesar 8%, kotiledon sebesar 90% serta terdapat struktur minor yakni hipokotil dan *pulmule* yang keduanya sekitar 2% (Wolf & Cowan, 1977). Adapun gambar kedelai disajikan berikut ini.



Gambar 2. Kedelai

Secara kualitatif protein kedelai tersusun atas asam-asam amino esensial yang lengkap dan baik. Di samping itu protein kedelai relatif lebih murah dibanding protein hewani, serta mudah diperoleh sehingga merupakan komoditas yang penting untuk dikembangkan penggunaannya lebih lanjut.

Bila dilihat dari komposisi kacang-kacangan secara umum, maka sekitar 25% dari kalori (energi) yang terdapat dalam kacang-kacangan adalah protein. Kacang-kacangan biasanya kekurangan metionin, yaitu salah satu asam amino esensial yang diperlukan untuk membuat suatu protein lengkap (Winarno,1993).

Nilai protein kedelai jika difermentasi dan dimasak akan memiliki mutu yang lebih baik dari jenis kacang-kacangan lain. Disamping itu, protein kedelai merupakan satu-satunya leguminosa yang mengandung semua asam amino esensial (yang jumlahnya 8 buah atau 10 buah bila dimasukkan sistein dan tirosin) yang sangat diperlukan oleh tubuh. Asam amino tersebut tidak dapat disintesis oleh tubuh, jadi harus dikonsumsi dari luar. Namun, perlu juga diakui bahwa kacang kedelai memiliki sedikit kekurangan, yaitu mengandung sedikit asam amino metionin (Winarno,1993).

Komposisi zat gizi kedelai kering dan basah berbeda, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2 (Anonim, 2000).

Tabel 2. Komposisi Zat Gizi Kedelai Tiap 100 g

No	Kandungan Gizi	Kedelai Basah	Kedelai Kering
1	Energi (kkal)	286,0	331,0
2	Protein (g)	30,2	34,9
3	Lemak (g)	15,6	18,9
4	Karbohidrat (g)	30,1	34,8
5	Kalium (g)	196,0	227,0
6	Fosfor (g)	506,0	585,0
7	Besi (mg)	6,9	8,0
8	Vit. A (SI)	95,0	110,0
9	Vit. B (mmg)	0,93	1,07
10	Air (g)	20,0	7,5

Protein kedelai sebagian besar terdiri dari 85 - 95% globulin. Dibandingkan dengan kacang-kacang lain, susunan asam amino pada kedelai lebih lengkap dan seimbang. Protein kedelai juga memiliki kandungan lisin (asam amino essensial) dalam jumlah besar, sehingga dapat menutupi kekurangan lisin yang biasanya terdapat pada beras dan jagung (Winarno,1993).

3. Tepung Kedelai

Pembuatan tepung kedelai berlemak penuh dibedakan menjadi dua macam, yaitu tepung yang dibuat untuk digunakan dalam industri pengolahan bahan makanan dan tepung yang dibuat untuk dijual dengan tujuan program nutrisi. Tepung kedelai berlemak penuh dapat dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu tepung yang digunakan untuk pemucatan roti dan tepung untuk berbagai keperluan umum. Ketika tepung kedelai digunakan untuk pemucatan, maka tepung tersebut harus dibuat dari biji-biji yang tidak dimasak, karena enzim-enzim dalam biji harus tetap aktif sampai selesainya proses pemucatan.

Hampir semua tepung kedelai berlemak penuh untuk berbagai keperluan, dibuat dengan proses dasar sama, yaitu terdiri atas:

- a. Pembersihan biji, dapat dilakukan dengan alat pembersih secara kering ataupun dicuci dalam pencuci biji konvensional.
- b. Pemasakan, dalam air di bawah tekanan uap.
- c. Pengeringan dan penggilingan.

Proses tersebut dirancang untuk menghasilkan tepung kedelai berlemak penuh dengan kualitas protein baik. Dengan demikian jika digunakan untuk membuat produk akan mempunyai nilai gizi tinggi dan rasa tawar.

Produk akhir proses tersebut merupakan konsentrat kedelai yang telah mengalami pemasakan pendahuluan, mempunyai nilai kalori tinggi, dapat dibuat menjadi bubur encer dengan jalan menambah air panas, garam atau gula. Dapat pula ditambahkan pada berbagai macam bahan makanan lain. Adapun gambar tepung kedelai disajikan berikut ini.



Gambar 3. Tepung Kedelai

Gillberg menyatakan bahwa protein di dalam isolat protein kedelai yang dapat dicerna ($NPU = \text{net protein utilization}$ sebesar 58%, sedangkan protein bungkil kedelai mempunyai NPU sebesar 66% (Noor, 1992).

Menurut Markley (1985), tepung kedelai mengandung semua asam amino esensial, terutama *lysine* dan *tryptophan*. *Cystine* berkisar 0,74% - 1,46%;

tryptophan 1,89% - 2,84%; dan tyrosine 3,94% - 4,55%. Komposisi kimia tepung kedelai dapat dilihat pada Tabel 3 (Markley, 1985).

Tabel 3. Komponen Zat Gizi Tepung Kedelai

No	Komponen	% Minimum	% Maksimum	% Rata-rata
1	Air	5,02	9,42	8,0
2	Abu	3,30	6,35	4,6
3	Lemak	13,50	24,20	18,0
4	Serat	2,84	6,27	3,5
5	Protein	29,60	50,30	40,0
6	Pentosa	3,77	5,45	4,4
7	Gula	5,85	9,46	7,0
8	Substansi pati	4,65	8,97	5,6

Protein kedelai dari tepung kedelai kering antara lain terdiri dari 4 bagian globulin; 5,36 bagian albumin; 4,36 bagian protease; dan 6,03 bagian nitrogen non protein. Selanjutnya globulin berisi 78,5% glicinin; 21,5% phaseolin; dan albumin berisi 78,5% legumin dari 21,2% legumin kedelai.

4. Bubur Instan

Istilah bubur instan lebih dikenal dengan sebutan *pure* (asal kata Bahasa Inggris: *puree*). Pengertian *pure* berdasarkan Moeliono (1989) adalah pangan atau bahan pangan yang dilembutkan. Bubur termasuk salah satu bentuk olahan pangan yang mudah dikonsumsi masyarakat, memiliki tekstur yang lunak, sehingga mudah dicerna. Bubur merupakan istilah umum untuk mengacu pada campuran bahan padat dan cair, dengan komposisi cairan yang lebih banyak daripada padatan dan keadaan bahan padatan yang saling terpisah.

Perkembangan jaman menyebabkan masyarakat menuntut segala sesuatu yang serba cepat dan praktis. Demikian pula dalam hal makanan, masyarakat cenderung lebih menyukai produk pangan yang berbentuk instan. Bubur instan

merupakan bubur yang telah mengalami proses pengolahan lebih lanjut, sehingga dalam penyajiannya tidak diperlukan proses pemasakan. Penyajian bubur instan dapat dilakukan hanya dengan menambahkan air panas ataupun susu, sesuai selera (Fellows & Eliis, 1992). Bubur dapat dibuat dari beras, kacang hijau, beras mentah, ataupun dari beberapa campuran penyusun (Ratnawati, 1995).

Bubur instan diperoleh dengan melakukan instanisasi terlebih dahulu pada komponen penyusun bubur. Instanisasi dapat dilakukan dengan memasak biji-bijian komponen penyusun yang telah berbentuk tepung menjadi adonan kental, kemudian adonan dikeringkan dengan menggunakan *drum dryer*, hasil pengeringan akan dihancurkan dengan menggunakan pisau, sehingga menghasilkan tepung yang berukuran 60 mesh. Bahan tepung yang diperoleh telah bersifat instan dan dikemas menjadi bubur instan (Hartomo & Widiatmoko, 1993).

5. Fermentasi

Fermentasi adalah perubahan komposisi kimia bahan pangan yang disebabkan oleh enzim, baik yang dihasilkan oleh mikroorganisme maupun oleh bahan pangan tersebut (Buckle *et al.* 1987: 95). Dalam fermentasi terjadi aktivitas katabolik (memecah) komponen kompleks menjadi zat-zat yang lebih sederhana (Oyon & Yusti, 1988: 55).

Fermentasi timbul sebagai hasil metabolisme tipe anaerobik. Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi, antara lain:

a. Suhu

Suhu merupakan faktor yang terpenting yang mempengaruhi dan menentukan mikroba yang dominan dalam fermentasi. Suhu optimal mikroba berkisar antara 37 - 42°C. Suhu yang terlalu tinggi mengakibatkan kematian bagi mikroba. Sedangkan suhu yang terlalu rendah mengakibatkan mikroba tidak aktif.

b. Oksigen

Setiap mikroba membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya. Oleh sebab itu, kadar oksigen dalam fermentasi harus diatur.

c. pH

pH substrat atau media fermentasi merupakan salah satu faktor yang menentukan kehidupan *Lactobacillus*. Salah satu sifat *Lactobacillus* adalah bahwa pertumbuhan dapat berlangsung dengan baik pada kondisi pH 5,5 – 6,5.

d. Substrat

Mikroba membutuhkan substrat untuk tumbuh. Oleh sebab itu kadar substrat mempengaruhi jalannya fermentasi. Kadar substrat berhubungan erat dengan komposisi kimianya (Oyon & Yusti, 1988).

Fermentasi merupakan suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki dengan menggunakan bantuan mikroba. Fermentasi dapat berjalan dengan optimal jika berbagai faktor yang mempengaruhinya diperhatikan, diantaranya:

a. Aseptis.

Aseptis merupakan, kondisi yang bebas dari kontaminan. Apabila terdapat kontaminan, maka proses fermentasi tidak dapat berjalan optimal.

b. Komposisi Medium Pertumbuhan.

Medium pertumbuhan harus mengandung nutrisi yang cukup agar bakteri dapat berkembang dengan baik. Kekurangan nutrisi dapat menyebabkan kematian bagi bakteri, sehingga fermentasi tidak optimal.

c. Penyiapan Inokulum.

Inokulum bakteri yang disiapkan harus dalam keadaan, aktif sehingga dapat mempersingkat fase adaptasi pada saat fermentasi.

d. Volume Kultur Relatif Konstan (Tidak Bocor atau Menguap).

Wadah dari kultur yang mengalami kebocoran menyebabkan oksigen yang masuk dapat merusak fermentasi.

Lama fermentasi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam media. Buckle *et al.* (1987: 37), menyatakan bahwa terdapat empat fase pertumbuhan mikroorganisme yang harus dilalui, yaitu:

a. Fase Lambat (*Lag Phase*)

Waktu yang dibutuhkan untuk proses metabolisme dalam persiapan dan penyesuaian diri dengan kondisi pertumbuhan dalam lingkungan yang dicapai.

b. Fase Log (*Log Phase*)

Fase dimana mikroorganisme tumbuh dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum yang dapat dibantu oleh kondisi lingkungan yang dicapai.

c. Fase Tetap (*Stationary Phase*)

Fase dimana kecepatan pertumbuhan mikroorganisme menurun dan pertumbuhannya terhenti. Pertumbuhan populasi mikroorganisme biasanya dibatasi oleh habisnya bahan gizi yang tersedia atau penimbunan zat beracun sebagai hasil akhir metabolisme.

d. Fase Menurun (*Death Phase*)

Fase dimana sel mati secara eksponensial. Fase menurun atau kematian ini merupakan penurunan secara garis lurus yang digambarkan oleh jumlah sel-sel yang hidup terhadap waktu. Kecepatan kematian berbeda-beda tergantung dari spesies mikroorganisme dan kondisi lingkungannya.

Fermentasi memiliki berbagai manfaat, antara lain untuk mengawetkan produk pangan, memberi cita rasa atau *flavor* terhadap produk pangan tertentu, memberikan tekstur tertentu pada produk pangan. Dengan adanya proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroba tertentu diharapkan akan meningkatkan nilai gizi yang ada pada produk fermentasi, sehingga dapat diterima oleh konsumen dan meningkatkan permintaan terhadap produk fermentasi.

6. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk metabolit utamanya. BAL memiliki karakteristik produksi asam laktat dari karbohidrat melalui proses fermentasi. Organisme ini bersifat heterotropik dan umumnya membutuhkan nutrisi yang kompleks selama pertumbuhan dan perkembangannya, karena ketidakmampuan dalam beberapa proses biosintesis.

Sebagian besar spesies BAL membutuhkan berbagai jenis asam amino dan vitamin. BAL umumnya ada dalam suatu lingkungan dimana kebutuhannya dapat dipenuhi (Reddy *et al.*, 2008). BAL dimanfaatkan dalam industri makanan untuk beberapa alasan dan tujuan. Pertumbuhannya berakibat menurunkan kandungan karbohidrat bahan pangan yang difermentasi, dan penurunan pH karena produksi asam laktat. Proses asidifikasi adalah salah satu efek yang diinginkan dari pertumbuhan BAL. pH bahan pangan dapat turun hingga di bawah 4,0 yang cukup rendah untuk menghambat pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme lain termasuk mikroba patogen, sehingga umur simpan produk dapat lebih panjang.

Bakteri asam laktat terdiri atas sejumlah genus bakteri yang termasuk famili *Firmicutes*, yang terdiri dari 20 genus. Genus *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactospaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella* dikenal sebagai bakteri asam laktat (BAL) (Axelsson, 2004; Jay, 2000).

Lactobacillus merupakan genus terbesar dalam kelompok bakteri asam laktat dengan hampir 80 spesies berbeda. *Lactobacillus* termasuk kelompok

bakteri asam laktat yang diketahui memproduksi senyawa seperti bakteriosin yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Vandenberg, 1993). Taksonomi bakteri asam laktat didasarkan pada reaksi Gram dan produksi asam laktat dari berbagai jenis karbohidrat terfermentasi. *Lactobacillus* termasuk bakteri gram positif, sel tidak berspora, berbentuk batang panjang serta bersifat anaerob fakultatif dan katalase negatif (Prescott *et al.*, 2002). Media selektif untuk pertumbuhan spesies bakteri asam laktat adalah deMan-Rogosa-Sharpe Agar (MRS Agar). *Lactobacillus* tidak bersifat patogen (Holt *et al.*, 2000).

BAL tidak dapat menggunakan oksigen dalam produksi energinya, sehingga BAL tumbuh pada kondisi yang anaerob, tetapi tetap dapat tumbuh dengan keberadaan oksigen. Mereka terlindung dari *oxygen by-product* (contohnya, H_2O_2) karena memiliki peroksidase. BAL menghasilkan energi yang rendah, BAL tumbuh lebih lambat dibandingkan mikroba yang mampu melakukan respirasi, dan menghasilkan koloni yang kecil 2 – 3 mm.

BAL dapat tumbuh pada suhu 5 - 45°C dan toleran terhadap kondisi asam, dengan sebagian besar strain mampu tumbuh pada pH 4,4. Pertumbuhannya optimum pada pH 5,5 – 6,5 dan membutuhkan nutrisi kompleks, seperti asam amino, peptida, basa nukleotida, vitamin, mineral, asam lemak dan karbohidrat. Selain itu, BAL memproduksi sejumlah kecil senyawa organik yang memberikan aroma dan flavor pada produk hasil fermentasinya (Axelsson, 2004).

Genus BAL terbagi menjadi dua kelompok berdasarkan pola fermentasinya, yaitu:

a. Homofermentatif

Bakteri dalam kelompok ini menghasilkan lebih dari 85% asam laktat dari glukosa. BAL memfermentasi 1 mol glukosa menjadi 2 mol asam laktat, menghasilkan 2 mol ATP per molekul glukosa yang dimetabolisme. Asam laktat adalah produk utama fermentasi ini.

b. Heterofermentatif

Bakteri dalam kelompok ini menghasilkan hanya 50% asam laktat. BAL ini memfermentasi 1 mol glukosa menjadi 1 mol asam laktat, 1 mol etanol dan 1 mol CO₂. 1 mol ATP dihasilkan dari 1 mol glukosa, menghasilkan pertumbuhan yang lebih rendah per mol glukosa yang dimetabolisme.

7. Bakteri *L. plantarum*

Bakteri *L. plantarum* merupakan bakteri asam laktat dari famili *Lactobacillaceae* dan genus *Lactobacillus*. Bakteri ini bersifat gram positif, non motil, dan berukuran 0,6 - 0,8 µm x 1,2 - 6,0 µm. Bakteri ini memiliki sifat antagonis terhadap mikroorganisme penyebab kerusakan makanan seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, dan gram negatif. *L. plantarum* bersifat toleran terhadap garam, memproduksi asam dengan cepat dan memiliki pH optimum 5,3 - 5,6 (Buckle *et al.*, 1987).

Bakteri *L. plantarum* umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Fermentasi dari *L. plantarum* bersifat homofermentatif sehingga tidak menghasilkan gas (Buckle *et al.*, 1987). Bakteri *L. plantarum*

terutama berguna untuk pembentukan asam laktat, penghasil hidrogen peroksida tertinggi dibandingkan bakteri asam laktat lainnya dan juga menghasilkan bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang bersifat bakterisidal (James *et al.*, 1992).

L. plantarum dapat memproduksi bakteriosin yang merupakan bakterisidal bagi sel sensitif dan dapat menyebabkan kematian sel dengan cepat walaupun pada konsentrasi rendah. Bakteriosin yang berasal dari *L. plantarum* dapat menghambat *S. aureus* dan bakteri gram negatif (Branen & Davidson, 1993). *L. plantarum* mempunyai kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibiotik.

8. Bakteri *L. fermentum*

L. fermentum merupakan bakteri yang tidak membentuk spora dan bersifat heterofermentatif (Songisepp, *et al.*, 2004). Kullisaar *et al.* (2003) melaporkan bahwa konsumsi susu fermentasi yang mengandung *L. fermentum* menunjukkan efek antioksidatif dan antiaterogenik. Sementara itu, menurut Reid (2000), strain *L. fermentum* dapat memproduksi hidrogen peroksida yang berperan sebagai senyawa antimikroba. Bao *et al.* (2010) menyatakan bahwa *L. fermentum* memiliki karakteristik probiotik yang potensial karena memiliki ketahanan terhadap pH rendah serta mampu menstimulasi enzim pada saluran pencernaan dan menstimulasi pengeluaran garam empedu.

Zoumpopoulou *et al.* (2008), menyatakan bahwa *L. fermentum* menunjukkan potensi sebagai probiotik karena memiliki aktivitas mikrobial dan *immuno-modulator* yang diuji secara *in vitro* maupun *in vivo* menggunakan tikus

percobaan. *L. fermentum* memiliki efek antimikroba yang tinggi terhadap patogen seperti EPEC, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella sonnei* (Songisepp *et al.* 2004).

9. Macam-Macam Perhitungan Mikroba

Perhitungan mikroba dapat dilakukan dengan dua cara yaitu perhitungan secara langsung dan perhitungan secara tidak langsung. Perhitungan secara langsung dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

a. Metode Petroff-Hauser

Penghitungan secara langsung dapat dilakukan dengan cara mikroskopis, yaitu dengan menghitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil. Alat yang digunakan adalah Petroff-Hauser Chamber atau *Haemocytometer*. Jumlah cairan yang terdapat antara *cover glass* dan alat ini mempunyai volume tertentu sehingga satuan isi yang terdapat dalam satu bujur sangkat juga tertentu. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm². Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang panjang 0,2 mm. satu kotak dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. tinggi contoh yang terletak antara gelas objek dengan gelas penutup adalah 0,02 mm (Fardiaz, 1992).

b. Metode Plate Count

Ada dua metode *plate count* yang sering digunakan, yaitu metode sebaran dan metode tuang. Asumsi digunakannya metode ini adalah bahwa setiap satu sel mikroba dapat tumbuh dan akhirnya membentuk satu koloni yang dapat dilihat

dengan kasat mata. Pada metode sebaran, volume yang dibutuhkan adalah 0,1 ml agar sampel tersebut dapat tersebar, terendam, dan teresap. Hal ini karena jika lebih, maka sampel akan mengendap dan mengumpul, sehingga menyulitkan dalam perhitungan (Alimuddin, 2008).

Selain perhitungan mikroba secara langsung, maka ada cara untuk menghitung secara tidak langsung, yaitu :

a. Penentuan Volume Total

Cara ini adalah semacam modifikasi penentuan *hematocrit* pada pengukuran volume total butir-butir darah, misalnya 10 mL biakan dimasukkan ke dalam tabung reaksi khusus (tabung *Hopklins*) yang bagian bawahnya berupa silinder dan bergaris ukuran (Hadieotomo, 1990).

b. Metode Turbidimetri

Teknik ini sudah dipakai sebagai cara mengukur *keker han suspense* atas dasar penyerapan dan pemencaran cahaya yang dilintaskan, sehingga yang mengandung lebih dari 107 - 108 sel/mL, tampak lebih keruh terlihat oleh mata telanjang. Suatu volume biakan yang telah ditakar ditempatkan dalam tabung khusus yang jernih dengan diameter tertentu (Hadioetomo, 1990).

c. Metode MPN (*Most Probable Number*)

Most Probable Number dalam bidang kesehatan masyarakat dari mikrobiologi pangan dipergunakan secara luas untuk menghitung jumlah bakteri yang ada dalam bahan pangan. Media ini banyak digunakan untuk menghitung bakteri patogenik dalam jumlah sedikit yang terdapat dalam bahan pangan. Metode ini

berdasarkan atas pengenceran. Apabila suatu larutan yang mengandung sel-sel mikroorganisme diencerkan terus menerus, akhirnya akan diperoleh suatu larutan dimana tidak dijumpai sel lagi, yaitu dikatakan steril (Buckle *et al.*, 1985).

Metode MPN digunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan pada jumlah tabung yang positif, yaitu yang ditumbuhi oleh jasad renik setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau timbulnya gas di dalam tabung kecil (tabung Durham) yang diletakkan pada posisi terbalik, yaitu untuk jasad renik pembentukan gas. Untuk setiap pengenceran pada umumnya digunakan tiga atau lima seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi alat gelas yang digunakan juga lebih banyak (Fardiaz, 1992).

d. Metode Perhitungan Cawan

Metode perhitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang hidup dapat berkembang menjadi koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan adalah indeks bagi jumlah mikroorganisme yang terkandung dalam sampel. Teknik yang harus dikuasai dari metode ini adalah mengencerkan sampel dan memindahkan ke dalam cawan hasil pengenceran tersebut. Setelah inkubasi, jumlah semua koloni diamati untuk memenuhi persyaratan statistik. Cawan yang dipilih untuk menghitung koloni adalah cawan yang mengandung antara 30 - 200 koloni. Organisme yang terdapat dalam sampel asal ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan (Waluyo, 2007).

e. Berdasarkan Kekeruhan (Turbiditas/Turbidimetri).

Salah satu metode cepat yang digunakan untuk menghitung massa sel adalah melalui perhitungan kekeruhan (*turbidity*). Kekeruhan dapat diukur dengan menggunakan fotometer atau spektrofotometer. Pengukuran kekeruhan ini didasarkan atas partikel-partikel kecil yang menyebarkan cahaya langsung secara proposional (sampai batas-batas tertentu) dengan konsentrasinya. Zat cahaya melewati tabung yang berisi suspensi mikroba, sehingga cahaya akan dihamburkan (Pelezar, 1989).

10. Protein

Protein merupakan salah satu kelompok bahan makronutrien. Tidak seperti bahan makronutrien lainnya (karbohidrat, lemak), protein berperan lebih penting dalam pembentukan biomolekul daripada sumber energi. Namun demikian apabila organisme sedang kekurangan energi, maka protein dapat juga digunakan sebagai sumber energi cadangan.

Protein merupakan suatu zat makanan yang sangat penting bagi tubuh, karena zat ini disamping berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah sumber asam-asam amino yang mengandung unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein mengandung pula fosfor, belerang dan ada jenis protein yang mengandung unsur logam seperti besi dan tembaga (Budianto, 2009).

Protein merupakan molekul yang sangat besar, sehingga mudah sekali mengalami perubahan bentuk fisik maupun aktivitas biologis. Banyak faktor yang

menyebabkan perubahan sifat alamiah protein misalnya: panas, asam, basa, pelarut organik, pH, garam, logam berat, maupun sinar radiasi radioaktif. Perubahan sifat fisik yang mudah diamati adalah terjadinya penjendalan (menjadi tidak larut) atau pematatan (Sudarmadji, 1989).

Ada protein yang larut dalam air, ada pula yang tidak larut dalam air, tetapi semua protein tidak larut dalam pelarut lemak seperti misalnya etil eter. Daya larut protein akan berkurang jika ditambahkan garam, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan. Apabila protein dipanaskan atau ditambahkan alkohol, maka protein akan menggumpal. Hal ini disebabkan alkohol menarik mantel air yang melingkupi molekul-molekul protein.

Adanya gugus amino dan karboksil bebas pada ujung-ujung rantai molekul protein, menyebabkan protein mempunyai banyak muatan dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam maupun basa). Dalam larutan asam (pH rendah), gugus amino bereaksi dengan H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Bila pada kondisi ini dilakukan elektrolisis, molekul protein akan bergerak ke arah katoda. Sebaliknya, dalam larutan basa (pH tinggi) molekul protein akan bereaksi sebagai asam atau bermuatan negatif, sehingga molekul protein akan bergerak menuju anoda (Winarno, 1992).

11. Penentuan Kadar Protein Menggunakan Metode Lowry

Metode Lowry merupakan pengembangan dari metode Biuret. Dalam metode ini terlibat 2 reaksi. Awalnya, kompleks $Cu(II)$ -protein akan terbentuk sebagaimana metode biuret, yang dalam suasana alkalis $Cu(II)$ akan tereduksi menjadi $Cu(I)$. Ion Cu^+ kemudian akan mereduksi reagen Folin-Ciocalteu,

kompleks *phosphomolibdat-phosphotungstat*, menghasilkan *heteropolymolybdenum blue* akibat reaksi oksidasi gugus aromatik (rantai samping asam amino) terkatalis Cu, yang memberikan warna biru intensif yang dapat dideteksi secara kolorimetri. Kekuatan warna biru terutama bergantung pada kandungan residu tryptophan dan tyrosine-nya.

Keuntungan metode Lowry adalah lebih sensitif (100 kali) daripada metode Biuret sehingga memerlukan sampel protein yang lebih sedikit. Batas deteksinya berkisar pada konsentrasi 0.01 mg/mL. Namun metode Lowry lebih banyak interferensinya akibat kesensitifannya (Lowry *et al.*, 1951).

Metode Lowry-Folin hanya dapat mengukur molekul peptida pendek dan tidak dapat mengukur molekul peptida panjang. Prinsip kerja metode Lowry adalah reduksi Cu^{2+} (reagen Lowry B) menjadi Cu^+ oleh tyrosine, tryptophan, dan sistein yang terdapat dalam protein. Ion Cu^+ bersama dengan fosfotungstat dan fosfomolibdat (reagen Lowry E atau *Folin-Ciocalteu*) membentuk warna biru, sehingga dapat menyerap cahaya (Lowry *et al.*, 1951).

Metode Lowry mengkombinasikan pereaksi biuret dengan pereaksi lain (*Folin-Ciocalteu phenol*) yang bereaksi dengan residu tyrosine dan tryptophan dalam protein. Reaksi ini menghasilkan warna kebiruan yang dapat dibaca diantara panjang gelombang 500 – 750 nm, tergantung sensitivitas yang dibutuhkan. Akan muncul puncak kecil di sekitar 500 nm yang dapat digunakan untuk menentukan protein dengan konsentrasi tinggi dan sebuah puncak besar disekitar 750 nm yang dapat digunakan untuk menentukan kadar protein dengan konsentrasi rendah.

Beberapa zat yang dapat mengganggu penetapan kadar protein dengan metode Lowry ini, diantaranya buffer, asam nukleat, gula atau karbohidrat, deterjen, gliserol, Tricine, EDTA, Tris, senyawa-senyawa kalium, sulfhidril, disulfida, fenolat, asam urat, guanin, *xanthine*, magnesium, dan kalsium. Interferensi agen-agen ini dapat diminimalkan dengan menghilangkan interferensi tersebut. Oleh karena itu dianjurkan untuk menggunakan blanko untuk mengkoreksi absorbansi. Interferensi yang disebabkan oleh deterjen, sukrosa dan EDTA dapat dieliminasi dengan penambahan SDS atau melakukan preparasi sampel dengan pengendapan protein (Lowry *et al.*, 1951).

12. Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi.

Spektrofotometer yang sesuai untuk pengukuran di daerah spektrum ultraviolet dan sinar tampak terdiri atas suatu sistem dalam jangkauan panjang gelombang spektrum ultraviolet (200 - 350 nm) dan sinar tampak (350 - 800 nm) oleh suatu senyawa. Serapan cahaya (UV) atau sinar tampak (VIS) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Panjang gelombang cahaya UV-VIS bergantung pada mudahnya promosi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi

elektron, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energi lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang (Sastrohamidjojo, 1992).

Prinsip spektrofotometri UV-VIS senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak (senyawa berwarna) mempunyai elektron yang lebih mudah dipromosikan dari pada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang lebih pendek. Jika radiasi elektromagnetik dilewatkan pada suatu media yang homogen, maka sebagian radiasi ada yang dipantulkan, diabsorpsi, dan ada yang ditransmisikan. Radiasi yang dipantulkan dapat diabaikan, sedangkan radiasi yang dilewatkan sebagian diabsorpsi dan ditransmisikan.

Absorbsivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang atau frekuensi radiasi yang digunakan. Spektrum absorpsi (kurva absorpsi) adalah kurva yang menggambarkan hubungan antara absorban atau transmitan suatu larutan terhadap panjang gelombang atau frekuensi radiasi. Pemilihan panjang gelombang untuk analisis kuantitatif dilakukan berdasarkan pada spektrum absorpsi yang diperoleh pada percobaan. Pengukuran absorpsi harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum (λ maks), karena kepekaan maksimum dapat diperoleh jika larutan dengan konsentrasi tertentu memberikan signal yang kuat pada panjang gelombang tersebut.

Jika suatu berkas sinar melewati suatu medium yang bersifat homogen, maka sebagian dari cahaya datang akan diabsorpsi, sebagian lagi dipantulkan, dan sisanya akan ditransmisikan dengan efek intensitas murni. Berdasarkan hukum

Lambert-Beer dapat diketahui hubungan antara absorbansi, tebal sel, konsentrasi, dan intensitas cahaya. Hukum Lambert-Beer tersebut dirumuskan sebagai berikut:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan:

A = Absorbansi

ϵ = Absorbsivitas molar (1/mol cm)

b = Tebal kuvet (cm)

C = Konsentrasi analit (mol/L)

Hukum Lambert-Beer dapat diterapkan hanya untuk radiasi monokromatik dan memiliki sifat dasar sebagai spesies penyerap yang tidak berubah sepanjang jangkauan konsentrasi yang diteliti. Secara matematik, bila sistem ideal akan diperoleh satu garis lurus antara absorbansi (A) dengan konsentrasi (C).

B. Penelitian yang Relevan

Penelitian yang dilakukan Hendy (2007), yaitu pembuatan formulasi bubuk instan berbasis singkong (*manihot esculenta crantz*) sebagai pangan pokok alternatif. menunjukkan bahwa *pure* singkong instan memiliki kadar air 2,70% (bb); abu 1,60% (bb); protein 1,70% (bb); lemak 0,2% (bb); dan karbohidrat 93,80% (bb). Kandungan total mikroba *puresingkong* instan kering sebesar $7,5 \times 10^2$ kol/g. Kandungan total kapang dan khamir *pure* singkong instan kering masing-masing sebesar $1,0 \times 10^2$ kol/g. Kandungan total koliform *pure* singkong instan kering sebesar 3 APM/g.

Penelitian lainnya dilakukan oleh Kusumah (2008) bertujuan untuk mempelajari proses pembuatan bubur instan dari bahan tempe kedelai sebagai alternatif menu diet diabetes dengan komplikasi gangrene. Setelah pemasakan dan proses pengeringan dengan beberapa jenis pengering, seperti *freeze dryer*, *drum dryer* maupun *vacuum evaporator* menunjukkan tidak adanya pengaruh terhadap daya terima panelis mengenai produk dari aspek rasa, warna, aroma, tekstur dan keseluruhan produk. Rasa pahit masih menjadi salah satu kelemahan produk. Kondisi ini mengakibatkan penerimaan secara keseluruhan produk masih rendah. Pada aspek aroma, warna, dan tekstur menunjukkan tingkat penerimaan yang baik dari panelis.

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian pendahulu adalah bahan baku yang digunakan pada penelitian ini menggunakan campuran tepung bonggol pisang dan tepung kedelai. Perbedaannya lainnya, bubur instan yang dibuat pada penelitian ini melalui proses fermentasi dan dilakukan variasi lama fermentasi.

C. Kerangka Berpikir

Pisang merupakan salah satu komoditas unggulan yang dapat ditemui di hampir sebagian wilayah di Indonesia. Pisang kepok merupakan jenis pisang yang cocok diolah menjadi tepung. Tidak hanya buahnya, beberapa bagian dari tanaman pisang seperti bonggol, kulit, dan batang pisang dapat diolah menjadi beragam makanan olahan yang bernilai jual tinggi.

Bonggol pisang merupakan limbah pertanian yang saat ini relatif belum dimanfaatkan. Padahal bonggol tersebut masih relatif banyak mengandung zat gizi yang baik untuk dijadikan bahan pangan, khususnya kandungan karbohidratnya.

(66,7%). Oleh karena itu bonggol pisang dapat menjadi alternatif pangan pengganti beras maupun gandum yang selama ini menjadi makanan pokok masyarakat Indonesia.

Pada penelitian ini akan dicoba membuat bubur instan dari bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai. Namun bubur tersebut terlebih dahulu difermentasi agar ketika menjadi produk bubur instan menjadi memiliki usia simpan yang lebih lama. Penelitian ini menggunakan dua jenis bakteri asam laktat, yaitu bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* dengan sediaan protein sebagai nutrisi bakteri tersebut dari tepung kedelai yang ditambahkan. Melalui studi aktivitas bakteri asam laktat ini diharapkan dapat diperoleh informasi secara empirik mengenai aktivitas bakteri asam laktat yang ditinjau dari kadar proteinnya.

D. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka berpikir, maka diajukan hipotesis sebagai berikut :

1. Dapat dipelajari aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi.
2. Ada perbedaan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah bubur instan yang terbuat dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa tepung kedelai hasil fermentasi oleh bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada berbagai variasi waktu fermentasi.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini berupa kadar protein terlarut pada bubur instan berbahan baku bonggol pisang dengan dan tanpa tepung kedelai yang difermentasi bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada berbagai variasi waktu fermentasi.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini meliputi jenis bakteri, yaitu bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum*, dan lama fermentasi, yaitu 24, 48, dan 72 jam.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini berupa kadar protein terlarut dalam bubur instan dari bonggol pisang dengan dan tanpa tepung kedelai setelah difermentasi oleh bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* dengan lama fermentasi 24, 48, dan 72 jam.

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini berupa jumlah bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* yang digunakan untuk fermentasi.

C. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini, meliputi kompor, *cabinet dryer*, penangas air, neraca analitik, gelas arloji, *autoklaf*, ayakan, *petridish*, lemari kultur, *magnetic stirrer*, *micropipet*, gelas beker, *vortex*, gelas ukur, pipet volume, kertas saring, tabung reaksi, buret, *erlenmeyer*, dan spektrofotometer UV-VIS.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, meliputi bonggol pisang kepok, tepung kedelai, bakteri strain *L. plantarum*, bakteri strain *L. fermentum*, MRS Broth, MRS A, *Folin-Ciocalteu*, Na-Karbonat, Na-K-tartrat.5H₂O, larutan NaOH, larutan alkohol, akuades, CuSO₄.5H₂O, CaCO₃, dan nutrient agar.

D. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia FMIPA UNY.

E. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Pembuatan Tepung Bonggol Pisang

Bonggol pisang yang sudah tua dipotong menjadi beberapa bagian dan dicuci bersih dengan air. Selanjutnya bonggol direndam dalam air kapur untuk

menghilangkan getah dan mencegah proses pencoklatan. Setelah itu bonggol pisang dicuci lagi dengan air mengalir dan dipotong tipis, kemudian bonggol pisang direbus dalam air mendidih selama 5 - 10 menit untuk menghilangkan udara dari jaringan bahan, menonaktifkan enzim, membunuh mikroorganisme dalam bahan, dan mempercepat pengeringan. Selanjutnya bonggol pisang dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* selama 24 jam. Setelah bonggol kering, dilakukan penggilingan bonggol pisang menjadi tepung.

2. Peremajaan dari MRS-broth ke MRS-cair

Sebanyak 1 ose masing-masing kultur murni bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* dari media agar tegak diinokulasi ke dalam media MRS cair yang telah disterilisasi. Kemudian diinkubasi pada suhu 42°C selama kurang lebih 24 jam sampai nampak adanya pertumbuhan.

3. Jumlah Bakteri Starter

Penghitungan jumlah bakteri *starter* menggunakan metode penghitungan jumlah koloni (*Total Plate Count*). Sebanyak 1 mL *starter* bakteri dimasukkan ke dalam tabung pengenceran berseri yang berisi 9 mL larutan NaCl pada sembilan tabung, menggunakan pipet yang berbeda untuk setiap pengenceran. Kemudian sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri diambil dari tabung 4, 5, dan 6, dimasukkan ke dalam *petridish* yang telah berisi medium MRS-agar padat, kemudian ratakan dengan *drigalsky*, untuk masing-masing pengenceran dibuat dua kali pengulangan. Selanjutnya, diinkubasi pada temperatur optimum selama 24 jam. Meng-

hitung jumlah koloni dengan alat *colony counter*. Dengan jumlah koloni tiap *petridish* adalah 30 sampai 300 koloni.

4. Prosedur Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat

Pembuatan inokulum *L. plantarum* dan *L. fermentum* dilakukan dengan cara menyiapkan *starter* bakteri yang akan digunakan, kemudian menimbang MRS Broth 52,2 g untuk dilarutkan hingga 1 L larutan akuades dalam *erlenmeyer*, membagi tiap akuades menjadi 500 mL, menutup *erlenmeyer* dengan kapas, kain kasa dan dengan kertas kemudian diikat dengan karet. Setelah itu *erlenmeyer* dimasukkan dalam *autoklaf* dengan suhu mencapai 121°C dan tekanan 1 atm. Setelah sterilisasi selesai *autoklaf* dimatikan dengan membuka katup uap, kemudian menunggu hingga suhu dan tekanan stabil. *Erlenmeyer* dikeluarkan dari *autoklaf* dan didinginkan kemudian melakukan penanaman bakteri dalam 10 mL media cair yang terdapat dalam *erlenmeyer*.

5. Fermentasi Tepung Bonggol Pisang dengan dan tanpa Tepung Kedelai

Untuk keperluan fermentasi tepung pisang dilakukan terhadap 10 g tepung bonggol pisang yang telah dibuat sebelumnya, ditambah akuades sampai 50 mL dalam botol yang telah disiapkan. Campuran suspensi tepung bonggol pisang ini dibuat sebanyak 18 botol dengan rincian 9 botol untuk masing-masing jenis bakteri asam laktat yang digunakan untuk tiga variasi lama fermentasi (24, 48, dan 72 jam), ditambah satu botol untuk 0 jam (tanpa fermentasi). Sedangkan untuk fermentasi tepung bonggol pisang dengan tepung kedelai dilakukan dengan perbandingan 1 : 1, yaitu 5 g tepung bonggol pisang ditambah 5 g tepung kedelai,

kemudian ditambah akuades hingga 50 mL dalam botol yang lain. Jumlah botol sampel campuran tepung bonggol pisang dan tepung kedelai sama jumlahnya dengan botol yang berisi hanya tepung bonggol pisang.

Selanjutnya ke dalam setiap botol dimasukkan inokulum bakteri asam laktat masing-masing 10 mL, dengan perincian untuk botol yang berisi tepung bonggol pisang sebanyak 9 botol diberi bakteri asam laktat *L. plantarum* dan 9 botol lainnya diberi bakteri asam laktat *L. fermentum*, yang berarti setiap 3 botol mewakili satu lama fermentasi. Hal ini juga berlaku sama untuk botol yang berisi campuran tepung bonggol pisang dan tepung kedelai.

Seluruh botol sampel divortex kemudian diletakkan di dalam inkubator dengan suhu 42°C, kecuali botol yang tidak diisi bakteri sebagai kontrol atau tanpa fermentasi yang segera diukur kadar proteinnya.

6. Persiapan Penentuan Kadar Protein Bubur Instan

Sampel yang sudah difermentasi direbus selama 2 menit untuk mematikan bakteri. Sampel dikeluarkan dari dalam botol kemudian direndam dan diaduk dengan 25 mL air. Sampel direbus di dalam 50 mL air selama 2 menit kemudian dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* selama 24 jam pada suhu 40 °C. Sampel dalam berbagai variasi lama fermentasi siap untuk ditentukan kadar proteinnya.

7. Prosedur Pengujian Protein Terlarut

a. Pereaksi Lowry A (Reagen A)

Pereaksi Lowry A dibuat dengan cara menimbang 2 g Na_2CO_3 , dilarutkan ke dalam 100 mL larutan NaOH 0,1 M.

b. Pereaksi Lowry B (Reagen B)

Pereaksi Lowry B dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ke dalam 100 mL larutan Na-K-tartrat. $5\text{H}_2\text{O}$ 1%.

c. Pereaksi Lowry C (Reagen C)

Pereaksi C dibuat dengan mencampurkan 50 mL pereaksi Lowry A dengan 1 mL pereaksi Lowry B pada saat akan digunakan (selalu segar).

d. Reagen Folin-Ciocalteu (Reagen FC)

Pereaksi D dibuat dengan mengencerkan reagen *Folin-Ciocalteu* (FC) yang mengandung Na-tungstat dan Na-Molibdat dalam asam fosfat dan asam klorida, menggunakan akuades 2 kali dari volume reagen FC yang diencerkan.

8. Pembuatan Larutan Standar

Larutan standar adalah larutan yang dibuat dengan mengencerkan larutan induk (dalam hal ini larutan kasein 1 mg/mL) melalui perhitungan menggunakan rumus pengenceran dalam menentukan banyaknya volum larutan induk yang harus diambil untuk membuat larutan standar dengan konsentrasi tertentu. Adapun rumus pengencerannya sebagai berikut:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

V_1 = volum yang akan diambil dari larutan induk (dalam mL)

V_2 = volum larutan standar yang akan dibuat (10 mL)

M_1 = konsentrasi larutan induk (1 mg/mL)

M_2 = konsentrasi larutan standar yang akan dibuat (dalam mg/mL)

Sebelum larutan standar diukur absorbansinya, maka diambil salah satu larutan standar untuk digunakan dalam penentuan panjang gelombang maksimum dan waktu kestabilan. Pada penelitian ini dibuat larutan standar dengan konsentrasi berturut-turut 0,05; 0,1; 0,2; 0,4, 0,6; 0,8; dan 1 mg/mL. Adapun larutan standar yang digunakan untuk penentuan panjang gelombang maksimum dan waktu kestabilan adalah larutan standar dengan konsentrasi 0,1 mg/mL.

9. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan salah satu larutan standar (dalam hal ini larutan standar dengan konsentrasi 0,1 mg/mL). Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 1 mL larutan standar 0,1 mg/mL lalu ditambahkan 5 mL reagen C, dikocok dengan *vortex* dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit. Ditambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* lalu dikocok dengan *vortex* agar campuran homogen Dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar.

Selanjutnya larutan kompleks berwarna diukur absorbansinya pada panjang gelombang 720 – 770 nm dengan terlebih dahulu menggunakan larutan blanko yang sebelumnya diperlakukan sama dengan larutan standar, hanya berbeda 1 mL larutan standar diganti dengan 1 mL akuades. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi pada berbagai panjang gelombang tersebut, maka diperoleh absorbansi maksimum terjadi pada panjang gelombang 750 nm dan ini ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dimana untuk selanjutnya, baik pengukuran larutan standar konsentrasi lainnya dan larutan sampel dilakukan pada λ_{maks} .

10. Penentuan Waktu Kestabilan

Spektrofotometer diset pada panjang gelombang maksimum λ_{maks} 750 nm. Larutan blanko digunakan dalam kalibrasi alat spektrofotometer hingga nilai absorbansinya 0,00. Dengan menggunakan larutan standar yang sama dengan saat penentuan panjang gelombang maksimum (0,1 mg/mL) yang sudah direaksikan dengan reagen-reagen pembentuk kompleks berwarna sesuai metode Lowry melalui langkah-langkah yang sama ketika penentuan panjang gelombang maksimum, maka dilakukan pengukuran absorbansi dengan selang waktu 5 menit. hingga nilai absorbansi stabil. Waktu kestabilan ini digunakan sebagai lama waktu yang diperlukan agar semua larutan bereaksi secara sempurna.

11. Pengukuran Absorbansi Larutan Standar pada λ_{maks}

Spektrofotometer diset dengan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}), yaitu 750 nm. Larutan blanko disiapkan bersamaan dengan sederetan larutan standar pada berbagai variasi yang telah dibuat melalui pengenceran larutan induk kasein (1 mg/mL). Dengan langkah yang sama, maka larutan blanko dan sederetan larutan standar dibuat kompleks berwarna melalui langkah-langkah dalam metode Lowry, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dimulai dari konsentrasi yang terendah dengan terlebih dahulu menetapkan larutan blanko pada spektrofotometer menunjuk pada absorbansi 0,00.

Berdasarkan absorbansi sederetan larutan standar tersebut, maka dapat dibuat kurva standar/baku dengan sumbu X sebagai konsentrasi dan sumbu Y sebagai absorbansi. Dengan data tersebut ditentukan persamaan garis regresi dan melalui persamaan yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi

larutan sampel yang biasanya berada diantara *range* (interval) larutan-larutan standar yang dibuat.

12. Pengukuran Absorbansi Sampel

Sampel bubur instan kering dalam berbagai variasi lama fermentasi masing-masing ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilabeli sesuai dengan variasi lama fermentasi dan jenis bubur instan (dengan dan tanpa tepung kedelai). Kemudian masing-masing ditambah akuades sebanyak 10 mL. Untuk menghasilkan campuran homogen, larutan bubur instan dikocok dengan *vortex*, selanjutnya didiamkan ± 3 jam. Hasil rendaman sampel bubur instan disaring dengan kertas saring hingga didapatkan filtrat hasil rendaman bubur instan. Sebanyak 1 mL filtrat tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru lalu diencerkan dengan menambahkan akuades sampai 10 mL. Dengan demikian setiap sampel mengalami pengenceran 10 x 10, atau 100 kali pengenceran.

Selanjutnya dari filtrat yang telah diencerkan, diambil 1 mL, lalu ditambahkan 5 mL reagen C, dikocok dengan *vortex* dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit. Ditambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* lalu dikocok dengan *vortex* agar campuran homogen. Dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kompleks berwarna yang terbentuk siap diukur absorbansinya pada λ_{maks} (750 nm).

F. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini berupa kadar protein bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai hasil fermentasi dengan menggunakan dua jenis bakteri asam laktat, yaitu *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada berbagai variasi lama fermentasi yang dihitung berdasarkan persamaan garis regresi dari kurva standar yang diperoleh. Selanjutnya kadar protein pada berbagai variasi lama fermentasi tersebut dianalisis secara deskriptif kuantitatif, yaitu dengan melihat perubahan kadar protein yang terjadi, kemudian dideskripsikan aktivitas kedua bakteri tersebut terhadap lama fermentasi yang dilakukan ditinjau dari kadar protein yang diperoleh.

Selain itu juga dideskripsikan tentang perbedaan aktivitas kedua bakteri asam laktat yang digunakan melalui tinjauan kadar protein yang dihasilkan dari fermentasi yang dilakukan dengan bantuan kedua bakteri tersebut. Melalui deskripsi ini dapat ditunjukkan bahwa aktivitas bakteri asam laktat yang berperan dalam menghidrolisis karbohidrat yang terdapat dalam bubur instan menjadi asam laktat memerlukan protein dalam aktivitasnya yang diambil dari protein tepung bonggol pisang maupun tepung kedelai yang ada dalam campuran bubur instan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas bakteri asam laktat, yaitu bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* terhadap kadar protein pada hasil fermentasi tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai. Selain itu penelitian ini juga ingin mengetahui perbedaan aktivitas dari kedua bakteri asam laktat pada fermentasi bubur instan tersebut.

Adapun langkah-langkah penelitian yang dilakukan sebelum sampai pada penentuan kadar protein bubur instan tersebut pada berbagai variasi lama fermentasi meliputi:

1. Pembuatan Tepung Bonggol Pisang

Pada pembuatan tepung bonggol pisang, bahan baku bonggol pisang yang dipilih adalah bonggol pisang kepok yang baru saja ditebang atau sehari setelah ditebang namun tidak membusuk dan sudah pernah berbuah. Untuk menghasilkan 500 g tepung bonggol pisang dibutuhkan bonggol pisang basah dengan berat bersih 3000 g. Rendamen tepung bonggol pisang yang diperoleh sebanyak 16,7%. Tepung bonggol pisang yang dihasilkan adalah berwarna coklat muda dan berbau khas bonggol pisang.

Pembuatan tepung bonggol pisang dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu tahap pengupasan untuk memisahkan bonggol dari kulitnya, kemudian tahap menimbang dan merendam bonggol pisang dengan menggunakan air kapur, dan tahap berikutnya setelah direndam dibersihkan dan dilakukan proses penceluran

yaitu proses pemanasan sebelum bonggol dikeringkan agar udara dan enzim yang terdapat di dalam bonggol menjadi tidak aktif. Bonggol yang sudah diceluri kemudian diparut dan hasil parutan tersebut dikeringkan, kemudian setelah kering digiling dengan alat penggiling tepung, dan terakhir dilakukan pengayakan. Tepung bonggol pisang siap digunakan sebagai bubur instan yang akan difermentasi.

2. Analisis Perhitungan Pertumbuhan Bakteri

Penentuan jumlah bakteri asam laktat pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri asam laktat yang akan digunakan sebagai *starter* pada proses fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai. Penentuan jumlah bakteri menggunakan metode perhitungan jumlah mikroorganisme secara tidak langsung (Anna Rakhmawati, 2010: 24), yaitu dengan metode jumlah koloni (*Total Plate Count*). Cara ini merupakan cara yang paling umum digunakan untuk perhitungan jumlah mikroorganisme. Jumlah mikroorganisme yang terhitung hanya jumlah sel yang hidup (terlihat). Pada cara ini diasumsikan bahwa setiap koloni bakteri yang tumbuh berasal dari satu individu sel yang telah mengalami pembelahan sel. Oleh karena itu, dengan menghitung jumlah koloni dan faktor pengencerannya, maka jumlah bakteri asli dalam sampel dapat ditentukan.

Adapun hasil perhitungan pertumbuhan bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* dapat disajikan pada tabel berikut ini.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Pertumbuhan Bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum*

No	BAL	Pengenceran	Jumlah Bakteri		Rerata	Jumlah Koloni (cfu/mL)
			Cawan 1	Cawan 2		
1	<i>L. plantarum</i>	10^{-4}	98	74	86	$8,6 \times 10^{-5}$
		10^{-5}	84	79	81,5	$8,15 \times 10^{-6}$
		10^{-6}	63	50	56,5	$5,65 \times 10^{-7}$
2	<i>L. fermentum</i>	10^{-4}	62	79	70,5	$7,05 \times 10^{-5}$
		10^{-5}	55	47	51	$5,1 \times 10^{-6}$
		10^{-6}	41	32	36,5	$3,65 \times 10^{-7}$

3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan salah satu larutan standar (dalam hal ini larutan standar dengan konsentrasi 0,1 mg/mL). Setelah kompleks berwarna terbentuk melalui metode Lowry, maka diukur absorbansinya pada panjang gelombang 720 – 770 nm dengan larutan blanko sebagai kalibrasi terhadap spektrofotometer yang digunakan.

Adapun data yang diperoleh dari penentuan panjang gelombang maksimum ini dapat disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

No	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
1	720	0,655
2	730	0,697
3	740	0,710
4	750	0,856
5	760	0,851
6	770	0,841

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi pada berbagai panjang gelombang tersebut, maka diperoleh absorbansi maksimum terjadi pada panjang gelombang 750 nm dan ini ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum

(λ_{maks}) yang akan digunakan dalam pengukuran larutan standar konsentrasi lainnya dan larutan sampel.

4. Penentuan Waktu Kestabilan

Dengan menggunakan larutan standar yang sama dengan saat penentuan panjang gelombang maksimum (0,1 mg/mL) yang sudah direaksikan dengan reagen-reagen pembentuk kompleks berwarna sesuai metode Lowry, maka dilakukan pengukuran absorbansi dengan selang waktu 5 menit sampai menit ke-30. hingga nilai absorbansi stabil. Waktu kestabilan ini digunakan sebagai lama waktu yang diperlukan agar semua larutan bereaksi secara sempurna. Adapun hasilnya dapat disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Penentuan Waktu Kestabilan

No	Waktu (Menit)	Absorbansi
1	0	0,753
2	5	0,802
3	10	0,827
4	15	0,850
5	20	0,856
6	25	0,858
7	30	0,860

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi pada interval waktu tersebut, maka menunjukkan absorbansi dari menit ke-20 sampai ke-30 relatif stabil, sehingga ditetapkan menit ke-30 sebagai waktu kestabilan yang akan digunakan dalam pengukuran larutan standar konsentrasi lainnya dan larutan sampel.

5. Pengukuran Absorbansi Larutan Standar pada λ_{maks}

Dengan langkah yang sama, maka larutan blanko dan sederetan larutan standar dibuat kompleks berwarna melalui langkah-langkah dalam metode

Lowry, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dimulai dari konsentrasi yang terendah dengan terlebih dahulu menetapkan larutan blanko pada spektrofotometer menunjuk pada absorbansi 0,00.

Adapun hasil pengukuran absorbansi sederetan larutan standar pada λ_{maks} (750 nm) dan waktu kestabilan 30 menit diperoleh data sebagai berikut.

Tabel 7. Absorbansi Larutan Standar

No	Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi
1	0,05	0,136
2	0,1	0,176
3	0,2	0,287
4	0,4	0,462
5	0,6	0,592
6	0,8	0,650
7	1	0,857

Berdasarkan data absorbansi dari sederetan larutan standar yang telah diukur pada λ_{maks} dan waktu kestabilan, maka dapat dibuat persamaan garis regresi dengan X sebagai konsentrasi dan Y sebagai absorbansi, yaitu:

$$Y = 0,7255X + 0,1249$$

6. Pengukuran Absorbansi Sampel

Sampel bubuk instan kering dalam berbagai variasi lama fermentasi masing-masing ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilabeli sesuai dengan variasi lama fermentasi dan jenis bubuk instan (dengan dan tanpa tepung kedelai). Kemudian masing-masing ditambah akuades sebanyak 10 mL. Untuk menghasilkan campuran homogen, larutan bubuk instan dikocok dengan *vortex*, selanjutnya didiamkan \pm 3 jam. Hasil rendaman sampel bubuk instan disaring dengan kertas saring hingga didapatkan filtrat hasil

rendaman bubur instan. Sebanyak 1 mL filtrat tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru lalu diencerkan dengan menambahkan akuades sampai 10 mL.

Selanjutnya dari filtrat yang telah diencerkan, diambil 1 mL, lalu ditambahkan 5 mL reagen C, dikocok dengan *vortex* dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit. Ditambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteau* lalu dikocok dengan *vortex* agar campuran homogen. Dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kompleks berwarna yang terbentuk siap diukur absorbansinya pada λ_{maks} (750 nm).

Berdasarkan persamaan garis regresi yang diperoleh dari kurva standar dari sederetan larutan standar yang telah diukur pada λ_{maks} dan waktu kestabilan, maka dapat dihitung kadar atau konsentrasi protein larutan sampel dengan memasukkan harga absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dengan spektrofotometer ke dalam persamaan garis regresi tersebut, yaitu:

$$Y = 0,7255X + 0,1249$$

$$X = \frac{Y - 0,1249}{0,7255} \text{ mg/mL}$$

Berdasarkan perhitungan yang dilakukan dengan memasukkan dalam persamaan garis regresi tersebut kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran (100 kali), maka diperoleh kadar protein pada berbagai variasi lama fermentasi seperti disajikan pada Tabel 8. Adapun perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 8. Kadar Protein Bubur Instan Terfermentasi pada Berbagai Variasi Lama Fermentasi

No	Bubur Instan	Bakteri Asam Laktat	Kadar Protein (mg/mL)		
			24 Jam	48 Jam	72 Jam
1	Bonggol Pisang	<i>L. plantarum</i>	33,64	43,13	38,93
		<i>L. fermentum</i>	34,03	51,77	38,53
2	Bonggol Pisang + Tepung Kedelai	<i>L. plantarum</i>	46,21	50,56	56,36
		<i>L. fermentum</i>	48,50	53,20	57,23

B. Pembahasan

Penelitian ini telah berhasil membuat bubur instan dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai. Adapun penambahan tepung kedelai dimaksudkan sebagai nutrisi bagi bakteri asam laktat yang digunakan, sehingga bakteri dapat bekerja lebih efektif, dengan kata lain aktivitasnya dalam menghidrolisis karbohidrat yang ada dalam bubur instan tepung bonggol pisang menjadi asam laktat akan berjalan optimal. Hal ini karena medium pertumbuhan bakteri harus mengandung nutrisi yang cukup, agar bakteri dapat berkembang dengan baik. Kekurangan nutrisi dapat menyebabkan kematian bagi bakteri, sehingga fermentasi tidak optimal.

Berkaitan dengan pertumbuhan bakteri tersebut, maka untuk keperluan fermentasi terlebih dahulu harus dilakukan perhitungan terhadap banyaknya koloni bakteri yang akan digunakan sebagai *starter* proses fermentasi. Oleh karena itulah, maka penelitian ini diawali dengan perhitungan jumlah bakteri starter setelah sebelumnya dilakukan peremajaan terhadap kedua bakteri yang akan digunakan (*L. plantarum* dan *L. fermentum*).

Pada perhitungan mikroba setiap kelompok menggunakan produk fermentasi yang berbeda. Pada perhitungan jumlah mikroba diprioritaskan mikroba

dengan jumlah 30 - 300 koloni. Apabila kurang dari 300, maka menggunakan pengenceran terendah, sedangkan jika koloni lebih dari 300, maka dilakukan perhitungan menggunakan pengenceran tertinggi.

Analisis mikrobiologi berupa perhitungan jumlah koloni bakteri yang ada dari hasil pengenceran sebanyak 6 kali menunjukkan bahwa tingkat pengenceran akan berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri. Semakin tinggi pengenceran maka semakin banyak jumlah koloninya.

Pada penelitian ini pengenceran yang digunakan, yaitu pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} . Jumlah koloni pada masing-masing pengenceran selanjutnya digunakan untuk menghitung jumlah sel bakteri asam laktat pada masing-masing *starter*. Ketiga pengenceran memenuhi persyaratan perhitungan, yaitu 30 - 300 koloni, maka jumlah sel bakteri untuk setiap pengenceran dihitung terlebih dahulu dan selanjutnya dibandingkan satu demi satu antara hasil pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya.

Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan berdasarkan Pangastuti & Triwibowo (1996) yang menyatakan bahwa apabila perbandingan jumlah bakteri antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya kurang dari 2, hasilnya dirata-rata, tetapi bila lebih dari 2, maka yang digunakan jumlah bakteri dari pengenceran sebelumnya. Pada hasil pengukuran ini jumlah koloni bakteri dengan perbandingan pengenceran kurang dari 2, sehingga hasilnya dirata-ratakan. Jumlah ini termasuk dalam pertumbuhan yang cukup baik. Larutan yang digunakan dalam pengenceran berupa larutan fisiologis yang di dalamnya terkandung NaCl dan akuades.

Semakin tinggi tingkat pengenceran, maka koloni yang tumbuh semakin sedikit. Kondisi tersebut diakibatkan semakin banyak pengenceran jumlah bakteri akan terus berkurang dalam setiap volume inokulum.

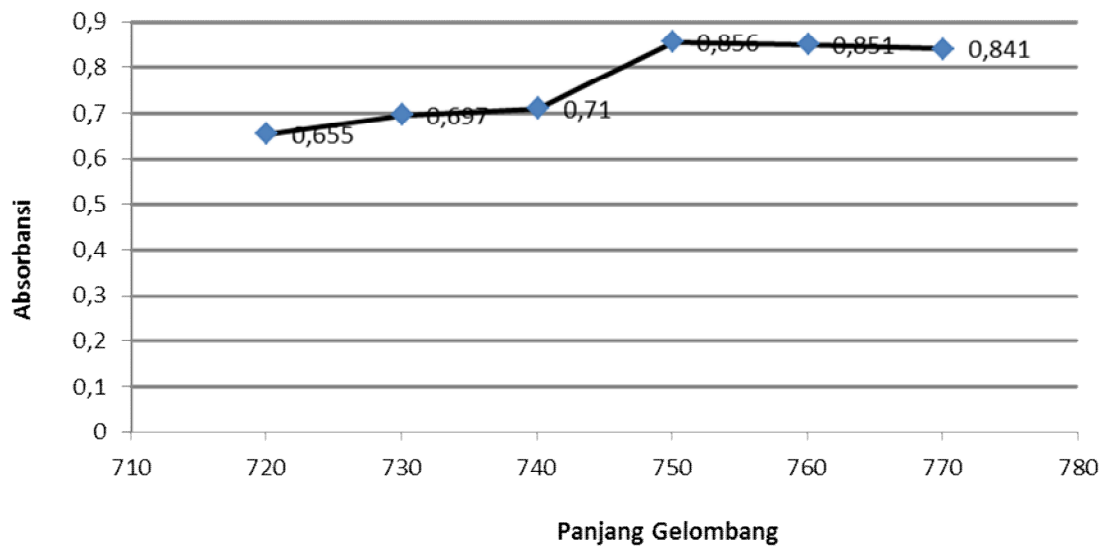
Perhitungan secara tidak langsung mempermudah dan memperkecil pekerjaan, karena di dalam perhitungan tidak secara langsung dapat menghitung mikroorganisme yang hidup. Berbeda dengan perhitungan yang langsung, yaitu menghitung mikroorganisme, baik bakteri yang hidup maupun mati, dan memerlukan bantuan zat pewarna agar bisa membedakan mikroorganisme yang mati dengan yang masih hidup.

Selanjutnya setelah diperoleh kepastian jumlah bakteri yang memenuhi syarat untuk dijadikan *starter*, maka tahap berikutnya melakukan fermentasi dengan mempersiapkan bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai ke dalam botol-botol sampel yang telah disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoklaf*. Dibutuhkan 38 botol sampel, dengan rincian 19 botol untuk fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai, yaitu masing-masing 9 botol untuk fermentasi dengan menggunakan bakteri *L. plantarum* untuk variasi lama fermentasi 24, 48, dan 72 jam (masing-masing variasi lama fermentasi 3 botol) dan 9 botol lainnya untuk fermentasi dengan menggunakan bakteri *L. fermentum*. Sedangkan 1 botol lagi digunakan sebagai kontrol tanpa fermentasi. Sebanyak 19 botol lainnya digunakan untuk fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang dengan penambahan tepung kedelai, dengan rincian seperti pada fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai.

Sampel yang sudah difermentasi selanjutnya dipersiapkan untuk dianalisis kadar proteinnya. Adapun langkah yang dilakukan adalah diawali dengan merebus selama 2 menit botol sampel yang berisi bubur instan yang terfermentasi untuk mematikan bakteri. Sampel dikeluarkan dari dalam botol kemudian direndam dan diaduk dengan 25 mL air. Sampel direbus di dalam 50 mL air selama 2 menit kemudian dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* selama 24 jam pada suhu 40 °C. Sampel dalam berbagai variasi lama fermentasi siap untuk ditentukan kadar proteinnya.

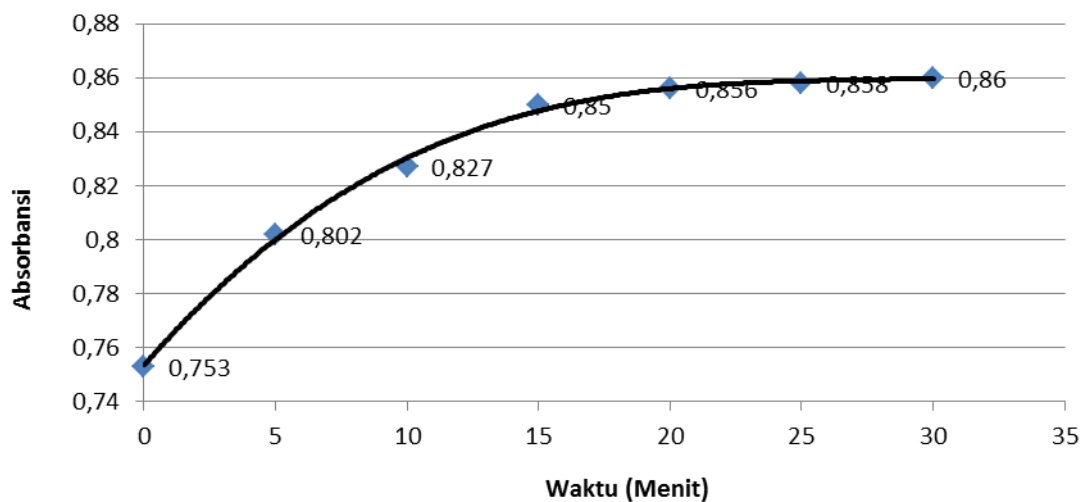
Sebelum mengukur absorbansi sampel, maka dilakukan pembuatan larutan induk kasein untuk membuat sederetan larutan standar yang akan digunakan dalam membuat kurva standar dan menurunkan persamaan garis regresi sebagai dasar penentuan kadar protein sampel. Adapun larutan induk kasein yang dibuat sebesar 1 mg/mL, dan diencerkan menjadi beberapa konsentrasi sebagai larutan standar, yaitu berturut-turut 0,05; 0,1; 0,2; 0,4, 0,6; 0,8; dan 1 mg/mL.

Dengan menggunakan larutan blanko dan larutan standar konsentrasi 0,1 mg/mL yang direaksikan dengan reagen-reagen sesuai dengan metode Lowry, maka kemudian dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dengan mengukur panjang gelombang antara 720 – 77 nm, dan waktu kestabilan setiap 5 menit mulai dari 0 – 30 menit. Adapun grafik dari kedua penentuan tersebut disajikan pada Gambar 4. dan 5.



Gambar 4. Grafik Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

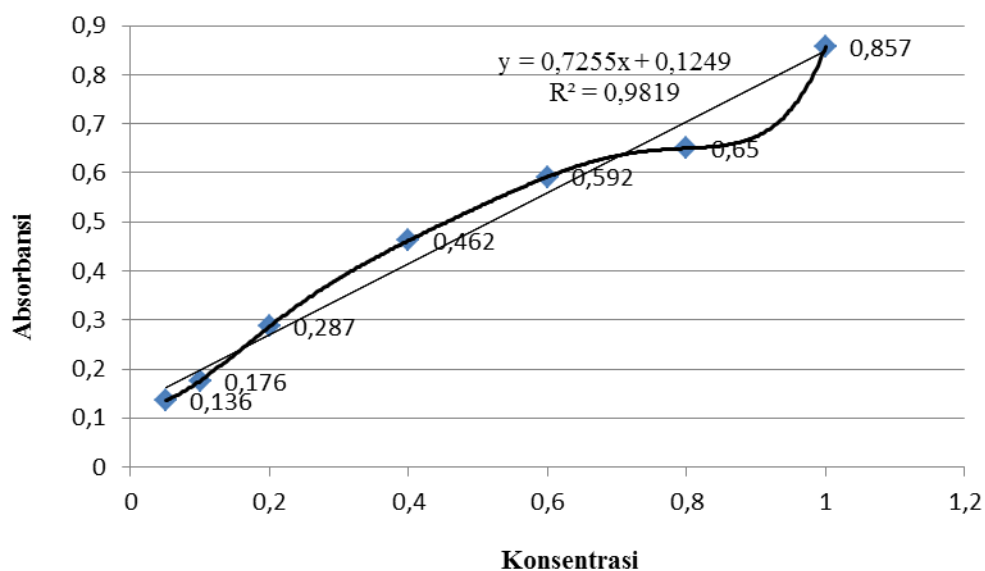
Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan bahwa absorbansi maksimal terjadi pada panjang gelombang 750 nm yang kemudian ditetapkan sebagai λ_{maks} yang akan digunakan dalam pengukuran absorbansi larutan standar lainnya dan larutan sampel. Demikian pula dengan waktu kestabilan ditetapkan pada menit ke-30, dimana dari hasil pengukuran absorbansi menunjukkan pada menit ke-20 sampai ke-30 relatif sama.



Gambar 5. Grafik Penentuan Waktu Kestabilan

Setelah λ_{maks} dan waktu kestabilan ditentukan, berikutnya dilakukan pengukuran absorbansi seluruh larutan standar yang telah dibuat. Berdasarkan data absorbansi tersebut, maka dibuat kurva standar dengan sumbu X sebagai konsentrasi dan sumbu Y sebagai absorbansi. Selanjutnya dari data itu pula dihitung persamaan garis regresinya yang akan digunakan untuk menentukan kadar protein dari larutan sampel yang sudah diukur absorbansinya.

Adapun kurva standar protein kasein yang dihasilkan dapat disajikan pada gambar berikut ini.



Gambar 6. Kurva Standar Protein

1. Aktivitas *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada Fermentasi Bubur Instan Tepung Bonggol Pisang Tanpa Penambahan Tepung Kedelai

L. plantarum dan *L. fermentum* adalah dua jenis bakteri asam laktat (BAL) yang memproduksi asam laktat sebagai produk metabolit utamanya. BAL mengubah karbohidrat yang ada dalam media tumbuhnya menjadi asam laktat melalui proses fermentasi.

Seperti halnya bakteri lainnya, sebagai mikroorganisme membutuhkan nutrisi yang kompleks selama pertumbuhan dan perkembangannya, karena ketidakmampuan dalam beberapa proses biosintesis. Oleh karena itu pertumbuhan BAL berakibat menurunkan kandungan karbohidrat bahan pangan yang difermentasi, dan penurunan pH karena produksi asam laktat.

Pada penelitian ini dua jenis BAL, yaitu *L. plantarum* dan *L. fermentum* digunakan untuk fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai. Oleh karena untuk pertumbuhan bakteri yang bekerja pada proses fermentasi tersebut dibutuhkan nutrisi yang salah satunya protein, maka aktivitas bakteri ini dapat ditinjau dari kadar protein yang berkurang setelah fermentasi dihentikan.

Berdasarkan Tabel 8 menunjukkan bahwa aktivitas kedua BAL pada proses fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai mengalami kenaikan pada lama fermentasi dari 24 jam ke 48 jam, yaitu untuk bakteri *L. plantarum* dari kadar protein 33,64 mg/mL menjadi 43,13 mg/mL, sedangkan untuk bakteri *L. fermentum* dari kadar protein 34,03 mg/mL menjadi 51,56 mg/mL. Hal ini berarti persediaan nutrisi yang berupa protein relatif baru sedikit digunakan untuk aktivitas kedua bakteri tersebut, sehingga kadar protein yang terkandung dalam bonggol pisang masih relatif tinggi. Namun aktivitas bakteri *L. fermentum* jauh lebih rendah dibandingkan bakteri *L. plantarum* yang ditunjukkan dari kadar protein pada lama fermentasi 48 jam dari *L. fermentum* (51,77 mg/mL) jauh lebih tinggi daripada *L. plantarum* (43,13 mg/mL).

Seperti diketahui bakteri *L. plantarum* bekerja optimum pada pH 5,3 - 5,6, sedangkan bakteri *L. fermentum* bekerja optimum pada pH yang lebih rendah dari pH optimum *L. plantarum*. Ketika lama fermentasi baru berlangsung 48 jam, asam laktat yang dihasilkan dari aktivitas bakteri tersebut dalam menghidrolisis karbohidrat relatif masih sedikit, sehingga pH-nya belum cukup rendah untuk pertumbuhan bakteri *L. fermentum*, tetapi sudah mendekati pH optimum *L. plantarum*. Hal inilah yang menyebabkan pada lama fermentasi 48 jam, aktivitas *L. fermentum* relatif masih rendah yang ditunjukkan dari masih tingginya kadar protein bubur instan bonggol pisang hasil fermentasi tersebut.

Kadar protein mengalami penurunan pada lama fermentasi dari 48 jam ke 72 jam, baik pada hasil fermentasi oleh bakteri *L. plantarum* maupun *L. fermentum*. Hal ini menunjukkan bahwa pada lama fermentasi 72 jam kedua bakteri sudah beraktivitas tinggi yang dapat dilihat dari menurunnya kadar protein dari bubur instan hasil fermentasi. Dengan kata lain, protein yang terdapat dalam bubur instan bonggol pisang sudah banyak digunakan untuk pertumbuhan dan aktivitas kedua bakteri tersebut.

Berdasarkan data ini juga menunjukkan bahwa bakteri *L. fermentum* (38,53 mg/mL) memiliki aktivitas yang relatif sama dengan bakteri *L. plantarum* (38,93 mg/mL) ketika fermentasi sudah berlangsung 72 jam.

2. Aktivitas *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada Fermentasi Bubur Instan Tepung Bonggol Pisang dengan Penambahan Tepung Kedelai

Berbeda halnya dengan hasil pada fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai, maka pada bubur instan terfermentasi

dengan penambahan tepung kedelai, mulai dari lama fermentasi 24 jam menuju 48 jam dan 72 jam mengalami peningkatan. Hal ini karena selain nutrisi protein bakteri tersebut diperoleh dari tepung bonggol pisang, juga diperoleh dari protein tepung kedelai. Dengan demikian ketika bakteri mulai tumbuh dan beraktivitas, kadar protein bubur instan hasil fermentasi tersebut tetap mengalami kenaikan. Tepung kedelai memiliki kadar protein relatif tinggi, yaitu 34,9 g/100 g , sehingga mencukupi untuk pertumbuhan dan aktivitas bakteri tersebut.

Pada penelitian ini tidak melakukan lama fermentasi lebih dari 72 jam, sehingga tidak dapat diketahui secara empiris pada lama fermentasi berapa kadar protein mengalami penurunan yang menandakan aktivitas kedua bakteri tersebut relatif tinggi. Diperkirakan kadar protein akan mengalami penurunan pada lama fermentasi tertentu jika fermentasi dilanjutkan.

Berbeda halnya dengan hasil fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai, maka ketika ke dalam bubur ditambahkan tepung kedelai menunjukkan bahwa aktivitas bakteri *L. plantarum* relatif lebih rendah dibandingkan bakteri *L. fermentum*. Hal ini ditunjukkan dengan kenaikan kadar protein bubur instan terfermentasi oleh *L. plantarum* relatif lebih tinggi dibandingkan oleh *L. fermentum*, terutama pada lama fermentasi 48 jam ke 72 jam, yaitu *L. plantarum* mengalami kenaikan kadar protein 5,80 mg/mL, sedangkan *L. fermentum* hanya 4,70 mg/mL.

Dengan hasil yang berbeda antara kadar protein bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa tepung kedelai menunjukkan bahwa tersedianya nutrisi protein yang semakin banyak (tepung bonggol pisang + tepung kedelai)

justru memperlambat aktivitas kedua bakteri yang ditandai dengan kenaikan lebih kecil dibandingkan pada bubur instan tanpa tepung kedelai. Hal ini kemungkinan semakin banyak protein tersedia, pH optimum bekerjanya kedua bakteri (pH asam) sulit tercapai, karena protein yang terdiri dari asam amino dapat membentuk *ion zwitter* yang justru mempengaruhi pH tidak turun ketika asam laktat terbentuk. Akibatnya aktivitas bakteri untuk tumbuh dan bekerja menjadi tidak optimum. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Kenaikan Kadar Protein Antar Lama Fermentasi

No	Bubur Instan	BAL	Kadar Protein (mg/mL)			Kenaikan Kadar Protein (mg/mL)
			24 Jam	48 Jam	72 Jam	
1	Bonggol Pisang	<i>L. plantarum</i>	33,64			
				43,13		9,49
					38,93	- 4,20
		<i>L. fermentum</i>	34,03			
				51,77		17,74
					38,53	- 13,24
2	Bonggol Pisang + Tepung Kedelai	<i>L. plantarum</i>	46,21			
				50,56		4,35
					56,36	5,80
		<i>L. fermentum</i>	48,50			
				53,20		4,70
					57,23	4,03

3. Aktivitas *L. plantarum* pada Fermentasi Bubur Instan Tepung Bonggol Pisang tanpa Penambahan Tepung Kedelai

Bakteri *L. plantarum* adalah salah satu bakteri asam laktat yang mampu menghidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat secara cepat pada pH optimum 5,3 - 5,6 (Buckle *et al.*, 1987). Oleh karena itu ketika bakteri *L. plantarum* mulai bekerja dan beraktivitas, asam laktat yang dihasilkan mampu menurunkan pH hingga berada pada pH optimum *L. plantarum*.

Pada lama fermentasi 48 jam, aktivitas bakteri *L. plantarum* belum menunjukkan kenaikan karena belum tercapainya pH optimum. Hal ini terlihat dari kadar proteinnya yang mengalami kenaikan (bukan penurunan), yaitu naik sebesar 9,49 mg/mL. Pada lama fermentasi 72 jam kadar proteinnya mengalami penurunan sebesar 4,20 mg/mL akibat semakin banyaknya asam laktat yang dihasilkan, sehingga pH optimum *L. plantarum* tercapai. Untuk lebih jelaskan, pola kecenderungan kadar protein bubur instan terfermentasi dapat dilihat pada Tabel 10 berikut ini.

Tabel 10. Kadar Protein Bubur Instan Terfermentasi oleh *L. plantarum*

No	Bubur Instan	Kadar Protein (mg/mL)			Kenaikan Kadar Protein (mg/mL)
		24 Jam	48 Jam	72 Jam	
1	Bonggol Pisang	33,64			
			43,13		9,49
				38,93	- 4,20
2	Bonggol Pisang + Tepung Kedelai	46,21			
			50,56		4,35
				56,36	5,80

Pada bubur instan tepung bonggol pisang dengan penambahan tepung kedelai memiliki pola aktivitas yang berbeda dibandingkan bubur instan tanpa penambahan tepung kedelai. Hal ini terlihat pada Tabel 10 yang menunjukkan kenaikan 4,35 mg/mL (dari 24 jam ke 48 jam) dan 5,80 mg/mL (dari 48 jam ke 72 jam). Kemungkinan terjadinya pola aktivitas yang demikian, karena keberadaan protein yang dikontribusikan oleh tepung kedelai dalam proses fermentasi menyebabkan kadar protein menjadi relatif tinggi dalam bubur tersebut. Jumlah protein yang berlebih tersebut dapat menjadikan pH lambat turun menuju pH optimum untuk aktivitas bakteri *L. plantarum* (5,3 – 5,6), karena adanya ion *zwitter* dari asam-amino penyusun protein.

4. Aktivitas *L. fermentum* pada Fermentasi Bubur Instan Tepung Bonggol Pisang dengan Penambahan Tepung Kedelai

Bakteri *L. fermentum* adalah salah satu bakteri asam laktat yang mampu menghidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat secara cepat pada pH di bawah pH optimum *L. plantarum*. (Buckle *et al.*, 1987). Oleh karena itu ketika bakteri *L. plantarum* mulai bekerja dan beraktivitas, bakteri *L. fermentum* belum menunjukkan aktivitas secara optimum karena pHnya belum rendah di bawah pH optimum *L. plantarum*, bahkan dapat dikatakan masih lambat. Hal ini ditunjukkan dari kadar protein bubur tersebut pada lama fermentasi 48 jam relatif naik secara tajam dari fermentasi 24 jam, yaitu sebesar 17,74 mg/mL. Dengan kata lain bakteri *L. fermentum* masih relatif sedikit menggunakan nutrisi protein untuk pertumbuhannya.

Pada lama fermentasi 72 jam, aktivitas bakteri *L. fermentum* meningkat relatif tinggi dibandingkan bakteri *L. plantarum*, yang ditunjukkan dengan penurunan kadar protein sebesar 13,24 mg/mL. Hal ini berarti pada lama fermentasi 72 jam asam laktat yang terbentuk dari hasil aktivitas bakteri *L. fermentum* dari menghidrolisis karbohidrat relatif tinggi. Dengan demikian pH yang rendah (sangat asam) tercapai dan kisaran pH rendah tersebut merupakan pH optimum bagi aktivitas bakteri *L. fermentum*. Pada Tabel 11 ditunjukkan kadar protein bubur instan terfermentasi oleh *L. fermentum*.

Pada fermentasi bubur instan tepung bonggol pisang dengan penambahan tepung kedelai menunjukkan hasil pola aktivitas bakteri *L. fermentum* yang berbeda dengan hasil fermentasi tanpa tepung kedelai. Hal ini karena tepung kedelai memberikan suplai nutrisi protein yang relatif tinggi, sehingga sampai

pada lama fermentasi 72 jam belum menunjukkan kenaikan aktivitas *L. fermentum* yang berarti. Namun jika dilihat dari kenaikan kadar protein dari 24 jam ke 48 jam (4,70 mg/mL) dan dari 48 jam ke 72 jam (4,03 mg/mL) menunjukkan bahwa pola aktivitas bakteri *L. fermentum* relatif tetap, tidak menunjukkan kecenderungan peningkatan yang tajam seperti yang terjadi pada fermentasi bubur instan bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai. Keberadaan protein dari tepung kedelai yang relatif tinggi kemungkinan justru menghambat aktivitas bakteri untuk bekerja menghidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat, akibatnya penurunan pH akan menjadi lambat juga. Dengan demikian pH optimum bekerjanya bakteri *L. fermentum* kemungkinan belum tercapai pada lama fermentasi 72 jam. Jika lama fermentasi diteruskan, maka akan ditemukan waktu dimana bakteri *L. fermentum* bekerja optimal, yaitu ketika kadar protein mengalami penurunan yang drastis.

Tabel 11. Kadar Protein Bubur Instan Terfermentasi oleh *L. fermentum*

No	Bubur Instan	Kadar Protein (mg/mL)			Kenaikan Kadar Protein (mg/mL)
		24 Jam	48 Jam	72 Jam	
1	Bonggol Pisang	34,03			
			51,77		17,74
				38,53	- 13,24
2	Bonggol Pisang + Tepung Kedelai	48,50			
			53,20		4,70
				57,23	4,03

Secara keseluruhan penelitian ini telah berhasil mempelajari aktivitas dua bakteri asam laktat, yaitu bakteri *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada bubur instan tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai dengan meninjau dari perubahan kadar protein yang terjadi pada lama fermentasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

Proses asidifikasi yang terjadi ketika bakteri asam laktat menghidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat adalah salah satu efek yang diinginkan dari pertumbuhan BAL. Dengan aktivitas pH ini bahan pangan dapat turun pH nya hingga di bawah 4,0. pH yang relatif rendah yang diciptakan dari hasil aktivitas BAL ini berguna untuk menghambat pertumbuhan sebagian besar mikroorganisme lain, termasuk mikroba patogen, sehingga harapannya umur simpan produk yang berupa tepung bonggol pisang dengan atau tanpa penambahan tepung kedelai dapat lebih panjang. Dengan demikian fermentasi yang dilakukan sebelum diolah menjadi bubur berfungsi sebagai cara untuk mengawetkan tepung tersebut agar lebih tahan lama.

Penelitian ini akan menjadi lebih sempurna jika lama fermentasi dilakukan lebih dari 72 jam agar diketahui lama fermentasi yang tepat menunjukkan kerja atau aktivitas optimum kedua bakteri, khususnya pada bubur instan tepung bonggol pisang dengan penambahan tepung kedelai yang pada penelitian ini belum menunjukkan penurunan kadar protein.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein menunjukkan pola aktivitas yang berbeda antara hasil fermentasi tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi. Aktivitas *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada fermentasi tepung bonggol pisang tanpa penambahan tepung kedelai menunjukkan pola aktivitas mengalami kenaikan pada lama fermentasi 72 jam yang ditunjukkan dengan menurunnya kadar protein. Aktivitas *L. plantarum* dan *L. fermentum* pada fermentasi tepung bonggol pisang dengan penambahan tepung kedelai menunjukkan pola aktivitas yang belum mengalami kenaikan sampai pada lama fermentasi 72 jam yang ditunjukkan dengan kadar protein yang masih meningkat.
2. Ada perbedaan aktivitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dan *L. fermentum* ditinjau dari kadar protein yang terdapat dalam bubur instan terfermentasi dari tepung bonggol pisang dengan dan tanpa penambahan tepung kedelai pada berbagai variasi lama fermentasi. Perbedaan aktivitas kedua bakteri dipengaruhi oleh pH yang terbentuk ketika fermentasi berlangsung. Oleh karena pH optimum *L. fermentum* lebih rendah dari *L. plantarum* (5,3 – 5,6), maka aktivitas *L. fermentum* relatif lebih lambat dibandingkan *L. plantarum*.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat diajukan beberapa saran, yaitu:

1. Perlu dilakukan fermentasi terhadap bubur instan tepung bonggol pisang dengan penambahan tepung kedelai lebih dari 72 jam agar dapat ditemukan aktivitas optimum kedua bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini (*L. plantarum* dan *L. fermentum*).
2. Perlu dilakukan penentuan kadar asam laktat dari kedua jenis bubur instan dalam penelitian ini agar lebih melengkapi dan memperjelas tinjauan aktivitas kedua BAL yang digunakan dan untuk mengkonfirmasi keterkaitan kadar protein dengan kadar asam laktat yang terbentuk.
3. Perlu dilakukan variasi *starter* bakteri BAL pada pembuatan bubur instan agar diperoleh data yang lebih lengkap mengenai lama fermentasi dan jumlah *starter* yang terbaik untuk menghasilkan bubur instan yang memenuhi kriteria bahan pangan yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alimuddin. (2008). *Analisis Power Spektrum Data Gaya Berat untuk Memperkirakan Kedalaman Bidang Batas Anomal Local Regional*. Hasil penelitian dan pengabdian kepada masyarakat. Lampung: Program Studi Geofisika Unila.
- Anonim. (2013). *Bonggol Pisang*. Diakses dari <http://jkmp4bandung.com>. pada tanggal 14 Februari 2015, jam 13.00 WIB.
- _____. (2000). *Widya Karya Pangan dan Gizi VII*. Diakses dari <http://www.Lipi.go.id>. pada tanggal 24 Februari 2015, jam 15.00 WIB.
- _____. (1985). *Tipe Iklim yang Cocok untuk Tanaman Kedelai*. Jakarta: Ditjen Pertanian Tanaman Pangan.
- Axelsson, L. (2004). *Lactic acid bacteria: classification and physiology*. In Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A., editors. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd edition, revised and expanded. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Bao Y, Zhang Y, Zhang Y, Li Y, Wang S, Dong X, Wang Y, Zhang H. (2010). *Screening of potential probiotic properties of Lactobacillus fermentum isolated from traditional dairy products*. *Food Control* 21: 695-701.
- Branen, A.L. (1993). *An Introduction*. Dalam: A. L. Branen dan P. M. Davidson. *Antimicrobials in Food*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Buckle, K.A., R.A. Edward, G.H. Fleet and R.D Applemen. (1987). *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan oleh Hari Purnomo & Adiono). Jakarta: UI-Press.
- Budianto, A.K. (2009). *Dasar-Dasar Ilmu Gizi*. Cetakan keempat. Malang: UMM Press.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I. (1981). *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharata Karya Aksara.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Fellow, P.J, & Ellis. (1992). *Food Processing Technology Principles and Practice*. London: Ellis Horwood.
- Hadioetomo. (1990). *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.

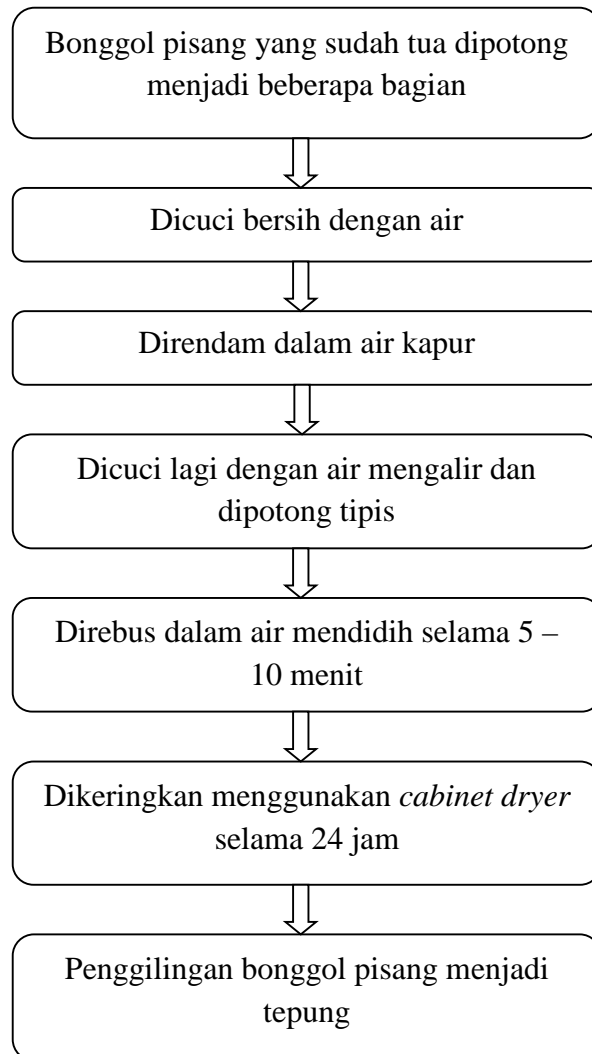
- Hartomo, A & Widyatmoko, M. (1993). *Emulsi dan Pangan Instan BerLesitin*. Cetakan I. Yogyakarta: Andi Offset.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P. Sneath, J.T. Staley & S.T. Williams. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th edition. Philadelphia: Williams & Wilkins.
- James L. Sumich. (1992). *An Introduction to The Biology of Marine Life*. 5th Edition. New York: Wm. C. Brown Publisher.
- Jay, J.M. (2002). *Modern Food Microbiology. Fourth Edition*. New York : An AVI Book. Van Nostrand Reinhold.
- Koswara, S. (1995). *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadi Makanan Bermutu*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Kullisaar T.; Songisepp, E.; Mikelsaar, M.; Zilmer, K.; Vihalemm, T.; Zilmer, M. (2003). *Antioxidative probiotic fermented goat's milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in Human*. J Nutr 90:449-456.
- Lowry, O.H., Roseborg, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). *Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent*. J. BioI. Chern., 193 : 265-275.
- Markley, K. (1985). *Soybean and Soybean Products*. 1st edition. New York: Inter Science Publisher.
- Moeliono, Anton M. (1989). *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Oyon Suwaryono & Yusti Ismeini. (1998). *Fermentasi Bahan Pangan Tradisional*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Pangastuti Hestining & Triwibowo Sitoresmi. (1996). *Laporan Perhitungan Jumlah Bakteri*. Diakses dari <http://kalbe.co.id/files/cdk/files/17>. pada tanggal 12 Maret 2015, jam 15.00 WIB.
- Pelezar, J. Michael & E.C.S Chan. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Ratna Siri H, dkk. Jakarta: UI-Press.
- Prescott, L.M. & Harley, J.P. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5th edition. Mc Graw-Hill Company.
- Rakhmawati, A. (2010). *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi I. Yogyakarta: UNY.

- Ratnawati, (1995). *Bubur Instan*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- Reddy G, Altaf, MD, Naveena, BJ, Ven Kateshwar, M, Kumar, EV. (2008). *Amylolytic bacterial lactic acid fermentation – A review*. Biotechnol Adv 26: 22 – 34. DOI: 10. 1016/j.biotechadv. 2007. 07. 004.
- Reid G. (2000). *In vitro testing of Lactobacillus acidophilus NCFM TM as a possible probiotic for the urogenital tract*. International Dairy J 10: 415-419.
- Rismunandar. (1990). *Bertanam Pisang*. Bandung: Sinar Baru.
- Sastrohamidjojo, H. (1992). *Spektroskopis*. Edisi 3. Jilid 3. Yogyakarta: Liberty.
- Songisepp, E.; Kullisaar, T.; Hutt, P.; Elias, P.; Brilene, T.; Zilmer, M.; Mikelsaar, M. (2004). *A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity*. J Dairy Sci 87: 2017-2023.
- Sudarmadji, S. (1995). *Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Suhardi. (2002). *Hutan dan Kebun sebagai Sumber Pangan Nasional*. Yogyakarta: Kanisius
- Vandenberg, R.A. (1993). *Lactic Acid Bacteria on It's Metabolic Products and Interference with Microbial Growth*. FEMS Microbial. Rev. 12: 221 – 238.
- Waluyo, L. (2008). *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM-Press.
- Winarno, F.G. (1994). *Bahan Tambahan Makanan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G. (1985). *Kedelai Bahan Pangan Masa Depan*. Bogor: Pusbangtepa IPB.
- Winarno, F.G. (1997). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G. (1993). *Pangan Gizi Teknologi dan Konsumen*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wolf, W.J. (1977). *Purification and Properties of the Protein*. Didalam A.K. Smith and S. J Circle (Eds). The AVI Publishing Co. Inc., Westport, Connecticut.

- Zoumpopoulou G, Foligne B, Christodoulouk, Gnanette C, Pot B, Tsakalidov E. (2008). *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 displays probiotics potential in vitro and protect against trinitrobenzen sulfonic acid (TNBS) induced colitis and salmonella infection in marine models. Inf JFood Microbiol 12:18-19.
- Zuheid Noor. (1992). *Senyawa Anti Gizi*. PAU Pangan dan Gizi. Yogyakarta: UGM.

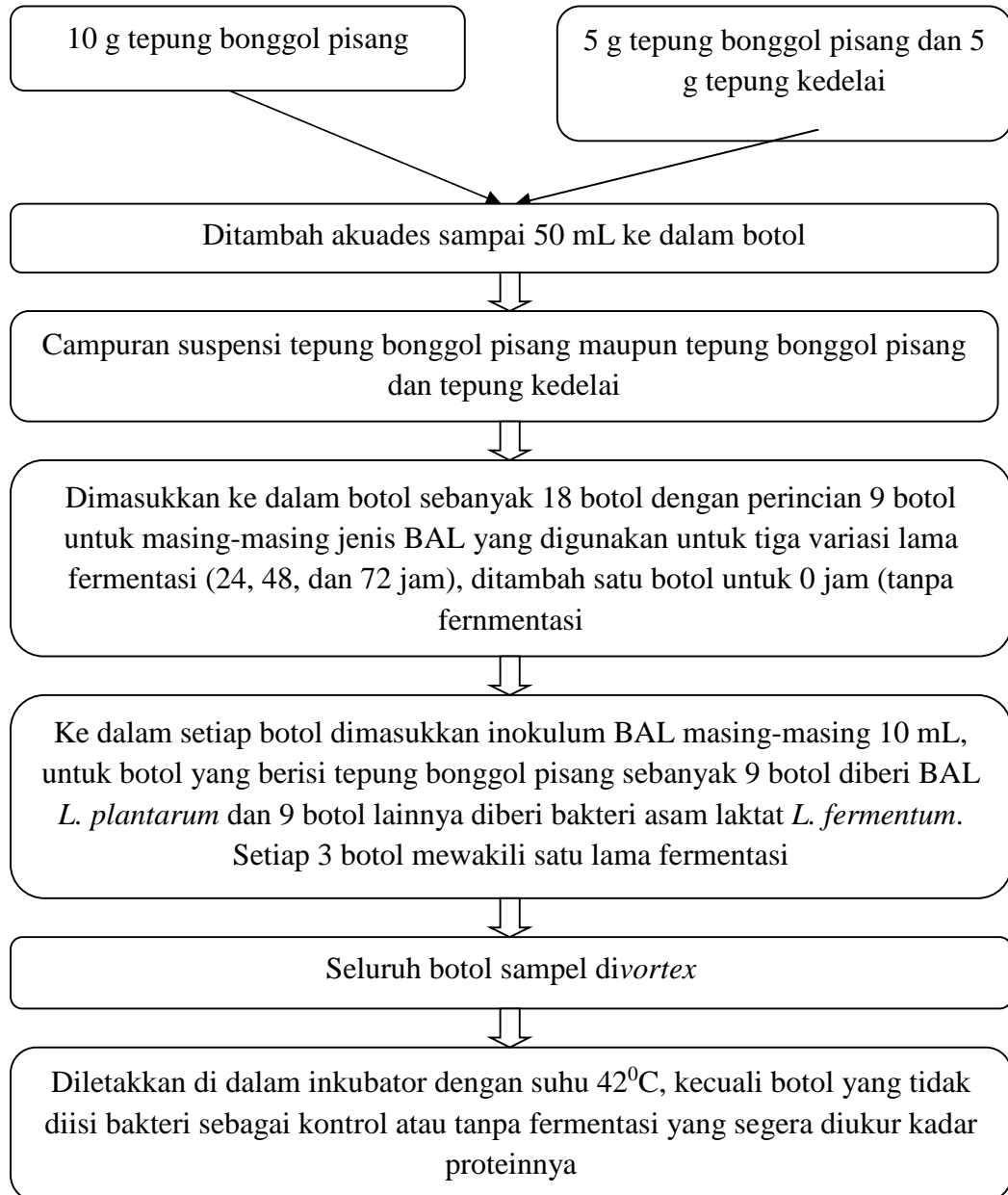
Lampiran 1

Pembuatan Tepung Bonggol Pisang



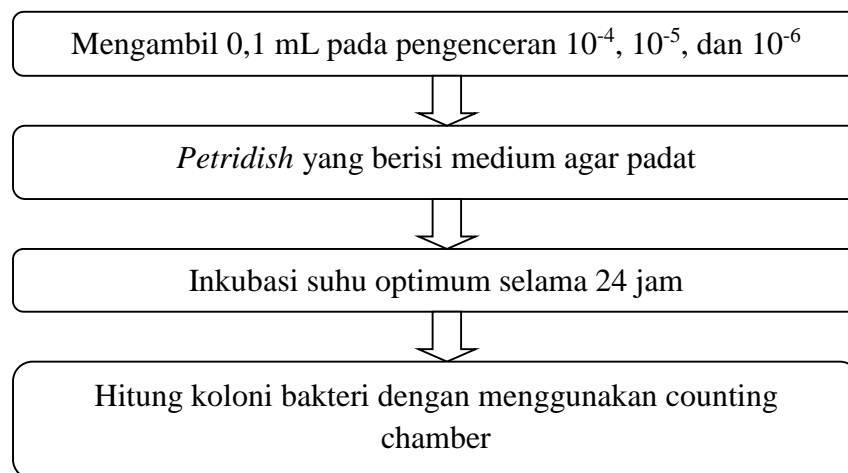
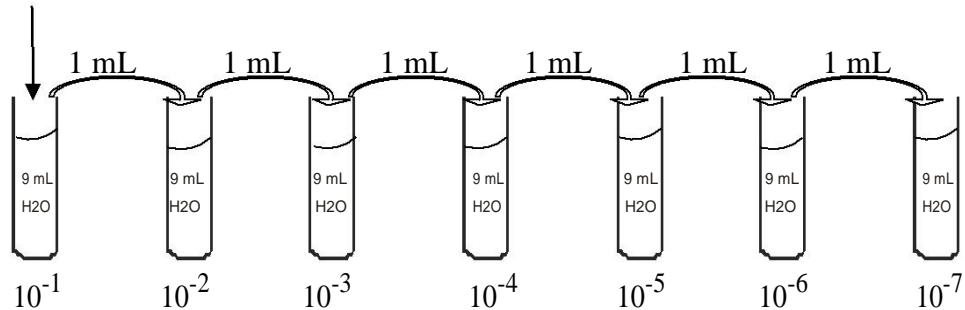
Lampiran 2

Proses Fermentasi Bubur Instan



Lampiran 3

Penentuan Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat



Pengenceran yang digunakan 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} , semua hasil memenuhi persyaratan, yaitu 30 – 300 koloni.

Cara Pengamatan Koloni

1. Hitunglah jumlah koloni pada masing-masing *petridish*. Baik koloni yang tumbuh dipermukaan agar maupaun koloni yang tumbuh di dalam agar.
2. Beberapa syarat yang harus dipenuhi untuk perhitungan, yaitu:
 - a. Jumlah koloni tiap *petridish* adalah 30 – 300 koloni, jika memang tidak ada yang memenuhi syarat dipilih yang jumlahnya mendekati 30.
 - b. Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas *petridish* (spread).

- c. Perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran berturut-turut antara pengenceran sebelumnya, jika sama atau lebih kecil dari 2 maka jumlah bakteri merupakan hasil rerata dari dua tersebut, tetapi jika lebih besar dari 2 maka yang dipakai adalah jumlah bakteri dari pengenceran sebelumnya.
- d. Jumlah sel bakteri yang viable/mL atau gram sampel dinyatakan dalam satuan Colony Forming Unit (cfu/mL atau cfu/gram).
- e. Jumlah sel bakteri/mL sampel merupakan hasil perkalian antara jumlah koloni terhitung (yang memenuhi persyaratan) dengan faktor pengenceran (kebalikan dari pengenceran).

Perhitungan yang digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri (TPC) adalah:

$$10^{-n} = \frac{\text{ulangan1} + \text{ulangan2}}{2} = A \times 10^n$$

Keterangan:

n = Jumlah pengenceran

A = Jumlah koloni bakteri

Catatan:

Apabila ada tiga pengenceran atau lebih yang memenuhi persyaratan perhitungan maka jumlah sel bakteri untuk setiap pengenceran dihitung terlebih dahulu dan selanjutnya diperbandingkan satu demi satu antara hasil pengenceran.

Jika hasil untuk masing-masing hasil pengenceran telah diperbandingkan dan hasilnya lebih besar atau sama dengan dua maka pengenceran perhitungan dihentikan pada pengenceran tersebut dan tidak dilanjutkan dengan perhitungan pada pengenceran selanjutnya.

Inokulum yang ditambahkan ke *plate* adalah 0,1 mL.

$$10^{-4} = \frac{98 + 74}{2} \times 10^4 = 8,6 \times 10^5$$

$$10^{-5} = \frac{84 + 79}{2} \times 10^5 = 81,5 \times 10^5$$

$$\frac{8,6 \times 10^5}{81,5 \times 10^5} \geq 2$$

Maka digunakan jumlah sel bakteri dari pengenceran yang lebih kecil, yaitu pengenceran 10^{-4} .

Jadi jumlah sel bakteri adalah $8,6 \times 10^{-5}$.

Karena inokulum yang ditambahkan ke *plate* 0,1 mL maka hasilnya dikalikan 10 sehingga jumlah sel bakteri adalah $8,6 \times 10^5 \times 10 = 8,6 \times 10^6$.

1. Bakteri Asam Laktat *L. Plantarum*

Jenis Bakteri		Jumlah Koloni pada Pengenceran			Jumlah Bakteri
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
<i>L.plantarum</i>	UL1	98	84	63	$8,6 \times 10^6$
	UL2	74	79	50	

2. Bakteri Asam Laktat *L. Fermentum*

Jenis Bakteri		Jumlah Koloni pada Pengenceran			Jumlah Bakteri
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	
<i>L.fermentum</i>	UL1	62	55	41	$7,05 \times 10^6$
	UL2	79	47	32	

Lampiran 4

Perhitungan Persamaan Garis Regresi

Tabel. Data Absorbansi Larutan Standar

No	Konsentrasi	Absorbansi
1	0,05	0,136
2	0,1	0,176
3	0,2	0,287
4	0,4	0,462
5	0,6	0,592
6	0,8	0,650
7	1	0,857
$Y = 0,7255X + 0,1249$		
$R^2 = 0,9819$		

Contoh untuk pengukuran statistika dasar sebagai berikut:

Tabel. Statistika Dasar untuk Penentuan Persamaan Kurva Kalibrasi

No	Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)	X^2	Y^2	$X.Y$
1	0,05	0,136	0,0025	0,0185	0,0068
2	0,1	0,176	0,01	0,0310	0,0176
3	0,2	0,287	0,04	0,0824	0,0574
4	0,4	0,462	0,16	0,2123	0,1848
5	0,6	0,592	0,36	0,3504	0,3551
6	0,8	0,650	0,64	0,4225	0,52
7	1	0,857	1	0,7344	0,8757
Σ	3,15	3,16	2,2125	1,8526	1,9988

Persamaan yang diperoleh dari perhitungan otomatis adalah $Y = 0,7255X + 0,1249$

dan $R^2 = 0,9819$

Berdasarkan perhitungan adalah:

$$b = \frac{(\Sigma Y)(\Sigma X^2) - (\Sigma X)(\Sigma XY)}{n(\Sigma X^2) - (\Sigma X)^2}$$

$$b = \frac{(3,16)(2,2125) - (3,15)(1,9988)}{7(2,2125) - (3,15)^2}$$

$$b = \frac{6,9915 - 6,29622}{15,4875 - 9,9225} = \frac{0,69528}{5,565} = 0,1249$$

Untuk mencari nilai a menggunakan rumus:

$$a = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2}$$

$$a = \frac{7(1,9988) - (3,15)(3,16)}{7(2,2125) - (3,15)^2}$$

$$a = \frac{13,9916 - 9,954}{15,4875 - 9,9225} = \frac{4,0376}{5,565} = 0,7255$$

Untuk menentukan nilai r dihitung dengan rumus:

$$r = \frac{(n \sum XY - \sum X \sum Y)^2}{(n \sum X^2 - (\sum X)^2)(n \sum Y^2 - (\sum Y)^2)}$$

$$r = \frac{(7(1,9988) - (3,15)(3,16))^2}{(7(2,2125) - (3,15)^2)(7(1,8526) - (3,16)^2)}$$

$$r = \frac{(13,9916 - 9,954)^2}{(15,4875 - 9,9225)(12,9682 - 9,9856)}$$

$$r = \frac{(4,0376)}{(5,565)(2,9826)} = \frac{16,3022}{16,5982} = 0,9819$$

Berdasarkan perhitungan maka diperoleh

$$Y = 0,7255X + 0,1249$$

$$r = 0,9819$$

Lampiran 5

Perhitungan Kadar Protein Larutan Sampel

1. Bonggol Pisang

Perlakuan	0	24 Jam		48 Jam		72 Jam	
	Data Uji	Data Uji	Rata Rata	Data Uji	Rata Rata	Data Uji	Rata Rata
<i>L. plantarum</i>	0.038	0,124	0,124	0,196	0,187	0,147	0,157
		0,115		0,191		0,164	
		0,133		0,177		0,159	
<i>L. fermentum</i>	0,036	0,145	0,122	0,247	0,251	0,142	0,155
		0,108		0,237		0,159	
		0,113		0,268		0,163	

Berdasarkan data absorbansi larutan sampel yang telah dituliskan, maka kadar protein larutan sampel dapat ditentukan dengan memasukan data absorbansi tersebut ke dalam persamaan garis regresi linear larutan standarnya. Untuk larutan standar protein persamaan garis linearnya adalah :

$$Y = bX + a$$

$$Y = 0,7255X + 0,1249$$

$$X = \frac{Y - 0,1249}{0,7255} = X \text{ mg/mL}$$

Perhitungan kadar protein dalam larutan sampel dapat dijabarkan sebagai berikut :

a. Perhitungan Bubur Instan dari Tepung Bonggol Sampel tanpa Fermentasi

$$X = \frac{0,039 - 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,2259 \text{ mg/mL} \times f \text{ pengenceran}$$

$$= 0,2259 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 22,59 \text{ mg/mL}$$

b. Perhitungan Bubur Instan dari Tepung Bonggol Sampel Fermentasi Bakteri Asam Laktat *L. plantarum* dan Bakteri Asam Laktat *L. fermentum*

1) Bubur Instan dari Tepung Bonggol *L. plantarum* Fermentasi 24 jam

a) Sampel ke 1

$$X = \frac{0,124 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3431 \text{ mg/mL} \times f \text{ pengenceran}$$

$$= 0,3431 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 34,31 \text{ mg/mL}$$

b) Sampel ke 2

$$X = \frac{0,115 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3307 \text{ mg/mL} \times f \text{ pengenceran}$$

$$= 0,3307 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 33,07 \text{ mg/mL}$$

c) Sampel ke 3

$$X = \frac{0,133 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3555 \text{ mg/mL} \times f \text{ pengenceran}$$

$$= 0,3555 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 35,55 \text{ mg/mL}$$

Rata-Rata

$$X = \frac{34,31 + 33,07 + 35,55}{3}$$

$$= 34,31 \text{ mg/mL}$$

2) Bubur Instan dari Tepung Bonggol *L. plantarum* Fermentasi 48 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,196 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,4423 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,4423 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 44,23 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,191 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,4354 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,4354 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 43,54 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,177 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,4161 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,4161 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 41,61 \text{ mg/mL}$$

Rata Rata

$$X = \frac{44,23 + 43,54 + 41,61}{3}$$
$$= 43,13 \text{ mg/mL}$$

3) Bubur Instan dari Tepung Bonggol *L. plantarum* Fermentasi 72 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,147 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3748 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,3748 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 37,84 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,164 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3982 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,3982 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 39,82 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,159 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3913 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,3913 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 39,13 \text{ mg/mL}$$

Rata rata

$$X = \frac{37,84 + 39,82 + 39,13}{3}$$

$$= 38,93 \text{ mg/mL}$$

4) Bubur Instan dari Tepung Bonggol *L. fermentum* Fermentasi 24 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,145 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3720 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,3720 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 37,20 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,108 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3210 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,3210 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 32,10 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$\begin{aligned} X &= \frac{0,113 + 0,1249}{0,7255} \\ &= 0,3279 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran} \\ &= 0,3279 \text{ mg/mL} \times 100 \\ &= 32,79 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Rata Rata

$$\begin{aligned} X &= \frac{37,20 + 32,10 + 32,79}{3} \\ &= 34,03 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

5) Bubur Instan dari Tepung Bonggol *L. plantarum* Fermentasi 48 jam

a. Sampel ke 1

$$\begin{aligned} X &= \frac{0,247 + 0,1249}{0,7255} \\ &= 0,5126 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran} \\ &= 0,5126 \text{ mg/mL} \times 100 \\ &= 51,26 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

b. Sampel ke 2

$$\begin{aligned} X &= \frac{0,237 + 0,1249}{0,7255} \\ &= 0,4988 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran} \\ &= 0,4988 \text{ mg/mL} \times 100 \\ &= 49,88 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

c. Sampel ke 3

$$\begin{aligned} X &= \frac{0,268 + 0,1249}{0,7255} \\ &= 0,5416 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran} \\ &= 0,5416 \text{ mg/mL} \times 100 \\ &= 54,16 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Rata rata

$$X = \frac{51,26 + 49,88 + 54,16}{3}$$
$$= 51,77 \text{ mg/mL}$$

6) Bubur Instan dari Tepung Bonggol *L. plantarum* Fermentasi 72 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,142 + 0,1249}{0,7255}$$
$$= 0,3679 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$
$$= 0,3679 \text{ mg/mL} \times 100$$
$$= 36,79 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,159 + 0,1249}{0,7255}$$
$$= 0,3913 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$
$$= 0,3913 \text{ mg/mL} \times 100$$
$$= 39,13 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,163 + 0,1249}{0,7255}$$
$$= 0,3968 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$
$$= 0,3968 \text{ mg/mL} \times 100$$
$$= 39,68 \text{ mg/mL}$$

Rata rata

$$X = \frac{36,79 + 39,13 + 39,68}{3}$$
$$= 38,53 \text{ mg/mL}$$

2. Bonggol Pisang dan Tepung Kedelai

Perlakuan	0	24 Jam		48 Jam		72 Jam	
	Data Uji	Data Uji	Rata Rata	Data Uji	Rata Rata	Data Uji	Rata Rata
<i>L. Plantarum</i>	0,097	0,223	0,210	0,246	0,242	0,267	0,284
		0,202		0,240		0,298	
		0,206		0,239		0,287	
<i>L. Fermentum</i>	0,096	0,232	0,227	0,268	0,263	0,292	0,290
		0,223		0,261		0,281	
		0,226		0,261		0,298	

a. Perhitungan Sampel Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai Tanpa Fermentasi

$$X = \frac{0,099 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,3086 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,3086 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 30,86 \text{ mg/mL}$$

b. Perhitungan Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai Sampel Fermentasi Bakteri Asam Laktat *L. plantarum* dan Bakteri Asam Laktat *L. fermentum*

1) Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai *L. plantarum* Fermentasi 24 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,223 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,4795 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,4795 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 47,95 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,202 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,4506 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,4506 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 45,06 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,206 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,4561 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,4561 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 45,61 \text{ mg/mL}$$

Rata rata

$$X = \frac{47,95 + 45,06 + 45,61}{3}$$

$$= 46,21 \text{ mg/mL}$$

2) Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai *L. plantarum* Fermentasi 48 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,246 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5112 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,5112 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 51,22 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,240 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5030 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$

$$= 0,5030 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 50,30 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,239 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5016 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}}$$

$$= 0,5016 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 50,16 \text{ mg/mL}$$

Rata rata

$$X = \frac{51,22 + 50,30 + 50,16}{3}$$

$$= 50,56 \text{ mg/mL}$$

3) Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai *L. plantarum* Fermentasi 72 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,267 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5402 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}}$$

$$= 0,5402 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 54,02 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,298 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5829 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}}$$

$$= 0,5829 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 58,29 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,287 + 0,1249}{0,7255}$$

$$\begin{aligned}
&= 0,5677 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}} \\
&= 0,5677 \text{ mg/mL} \times 100 \\
&= 56,77 \text{ mg/mL}
\end{aligned}$$

Rata rata

$$\begin{aligned}
X &= \frac{54,02 + 58,29 + 56,77}{3} \\
&= 56,36 \text{ mg/mL}
\end{aligned}$$

**4) Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai *L. fermentum*
Fermentasi 24 jam**

a. Sampel ke 1

$$\begin{aligned}
X &= \frac{0,232 + 0,1249}{0,7255} \\
&= 0,4919 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}} \\
&= 0,4919 \text{ mg/mL} \times 100 \\
&= 49,19 \text{ mg/mL}
\end{aligned}$$

b. Sampel ke 2

$$\begin{aligned}
X &= \frac{0,223 + 0,1249}{0,7255} \\
&= 0,4795 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}} \\
&= 0,4795 \text{ mg/mL} \times 100 \\
&= 47,95 \text{ mg/mL}
\end{aligned}$$

c. Sampel ke 3

$$\begin{aligned}
X &= \frac{0,226 + 0,1249}{0,7255} \\
&= 0,4837 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}} \\
&= 0,4837 \text{ mg/mL} \times 100 \\
&= 48,37 \text{ mg/mL}
\end{aligned}$$

Rata rata

$$X = \frac{49,19 + 47,95 + 48,37}{3}$$
$$= 48,50 \text{ mg/mL}$$

5) Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai *L. fermentum*
Fermentasi 48 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,268 + 0,1249}{0,7255}$$
$$= 0,5416 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$
$$= 0,5416 \text{ mg/mL} \times 100$$
$$= 54,16 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 2

$$X = \frac{0,261 + 0,1249}{0,7255}$$
$$= 0,5320 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$
$$= 0,5320 \text{ mg/mL} \times 100$$
$$= 53,20 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,261 + 0,1249}{0,7255}$$
$$= 0,5320 \text{ mg/mL} \times \text{fpengenceran}$$
$$= 0,5320 \text{ mg/mL} \times 100$$
$$= 53,20 \text{ mg/mL}$$

Rata rata

$$X = \frac{54,16 + 53,20 + 53,20}{3}$$
$$= 53,52 \text{ mg/mL}$$

6) Bubur Instan dari Tepung Bonggol dan Tepung Kedelai *L. fermentum*
Fermentasi 72 jam

a. Sampel ke 1

$$X = \frac{0,292 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5746 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}}$$

$$= 0,5746 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 57,46 \text{ mg/mL}$$

b. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,281 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5595 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}}$$

$$= 0,5595 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 55,95 \text{ mg/mL}$$

c. Sampel ke 3

$$X = \frac{0,298 + 0,1249}{0,7255}$$

$$= 0,5829 \text{ mg/mL} \times f_{\text{pengenceran}}$$

$$= 0,5829 \text{ mg/mL} \times 100$$

$$= 58,29 \text{ mg/mL}$$

Rata rata

$$X = \frac{57,46 + 55,95 + 58,29}{3}$$

$$= 57,23 \text{ mg/mL}$$

Lampiran 6

Dokumentasi

